В ОБМЕН

INSTITUT BACTERIOLOGIQUE PASTEUR
à LÉNINGRAD.

226
202
R45
12
THE ROCKEFELLER INSTITUTE LIBRARY MAY 14 1930 FOR MEDICAL RESEARCH

JOURNAL DE MICROBIOLOGIE

COMITÉ DE RÉDACTION:
A. Besredka, O. Hartoch, D. Zabolotny, J. Libermann,
P. Maslakowetz et G. Nadson.

BOSTON 1965 MEDICAL LIBRARY

TOME X 1930 № 1

LENINGRAD

Цена 3 руб.

ИЗДАНИЕ
Бактериологического Института имени ПАСТЕРА
Ленинградского Облздравотдела

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
имени ПАСТЕРА
ЛЕНИНГРАДСКОГО ОБЛЗДРАВОТДЕЛА

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ПОД РЕДАКЦИЕЙ
А. М. Безредка, О. О. Гартоха, Акад. Д. К. Заболотного, Я. Ю. Либермана,
П. П. Маслаковца и Акад. Г. А. Надсона

ТОМ X 1930 ВЫП. 1

ЛЕНИНГРАД

Ленинградский Областлит № 52466 Тираж 800 — 7 л. Заказ № 702.

Государственная типография имени Евгении Соколовой. Ленинград, просп. Красн. Командиров, 29.

ОГЛАВЛЕНИЕ.

Оригинальные статьи.

Стр.

Д. Кассина и Л. Бронштейн. — К вопросу об образовании знатоксинов . . . 1

Н. А. Вержиковский и Е. Ф. Гогин. — К вопросу о приготовлении токсина для реакции Schick'a на боратно-буферном растворе 5

Л. Л. Кандыба и И. Я. Садовский. — Стрептококковый токсин и антивирус 11

Н. Н. Левитов. — Преципитирующие свойства и физические особенности различных фракций эйглобулинов преципитирующей сибиреязвенной сыворотки 28

Н. Н. Андреев. — Организм, как гетерогенная система 37

В. Г. Дроботько и С. И. Городинская. — Опыт дифференциации микробов *coli-typhus* — группы по признакам их отношения к солям органических кислот 39

И. Левин. — О пигментообразующих тифоподобных палочках 50

Ф. А. Турандин. — *Bac. abortus equi* и типовое различие паратифозной группы по учению Кильской школы 55

П. П. Дьяконов. — К методике приготовления элективной среды для холерного вибриона 60

М. А. Рапопорт. — Два случая стрептотрихоза человека 63

Ф. С. Гриф и М. М. Иткин. — Мышиная парша у человека 68

С. Миронов. — Выращивание анаэробов в изолированных пробирках и чашках Petri 76

Л. Г. Гутман. — Редкие формы бешенства и осложнения при антирабических прививках 90

Научная хроника 96

RÉSUMÉS.

Articles originaux.

Pages.

D. Kissina et **L. Bronstein.** — Sur la formation des anatoxines 100

N. A. Verjikovsky and **E. F. Gogin.** — Concerning the Preparation of Toxin for the Schick Test with Borax Buffer Solution 101

L. L. Kandiba and **I. J. Sadowsky.** — The Toxin of Streptococci and the Antivirus 102

N. N. Lewitow. — Das Präzipitations- und physikalische Verhalten der verschiedenen Euglobulinfraktionen in präzipitierendem Milzbrandserum 102

N. N. Andrejew. — Der Organismus als ein heterogenes System 103

W. G. Drobotjko und **S. I. Gorodinskaja.** — Versuch, die Mikroben der Coli-Typhusgruppe nach ihrem Verhalten den Salzen anorganischer Saüren gegenüber zu differenzieren 105

I. Lewin. — Uber farbstoffbildende typhusähnliche Bakterien 106

F. A. Turandin. — Der *Bac. Abortus equi* und die Typenverschiedenheit der Paratyphusgruppe nach der Lehre der Kieler Schule 106

P. P. Diakonow. — Zur Metodik der Anfertigung eines elektiven Nährbodens für den *Vibrio Cholerae* 107

F. S. Griff und **M. M. Itkin.** — Mäusefavus beim Menschen 107

S. Mironow. — Anaerobenzüchtung in isolierten Eprouvetten und Petri-Schalen 108

L. Gutmann. — Seltene Formen der Wut und Komplikationen im Laufe der Impfung 109

Из Гос. Центр. Бактериол. Ин-та НКЗ. Москва.

К вопросу об образовании анатоксинов.

Д. Киссина и Л. Броништейн.

В первой части нашей работы об образовании анатоксинов мы занимались главным образом исследованием тех явлений, которые мы постоянно наблюдали при осаждении кислотой токсинов и анатоксинов.

В процессе осаждения мы подметили три характерных пункта:

Пункт I p_H — 6,2 - 6,3
„ II — Максимум осаждения (p_H — 3,9 - 4,0)
„ III — Появление свободной *HCl* (реакция с тропеолином p_H — 2,5 - 2,6).

Отношение 1-го интервала (количество *HCl*, добавленное от I пункта до II) ко 2-му (колич. кислоты от II пункта до III), названное нами кислотным отношением (*К. О.*), есть величина постоянная: 1 : 2 для свежего дифтерийного токсина; 1 : 1 для соответствующего анатоксина; 1 : 1 для столбнячного токсина, 1 : 0,5 для столбнячного анатоксина. Переход кислотного отношения от 1 : 2 к 1 : 1 в дифтерийном токсине происходит постепенно. Старые токсины дают такую же картину изменения *К. О.*, как и первые стадии образования анатоксина.

2-ой член отношения уменьшается и получает величины промежуточные между 2 и 1.

Постоянство этих отношений мы объясняли тем, что в дифтерийном токсине приходится иметь дело с соединением, содержащим две амидные группы и одну карбоксильную, т.-е. со щелочной солью какой-то диамино-кислоты, причем *HCl* первого интервала идет на разрушение щелочной соли и выделение свободной диаминокислоты, плохо растворимой в воде, откуда максимум осаждения; *HCl* во втором интервале идет на образование хлоргидрата с обоими аминами — соединения растворимого. Отсюда отношение 1 : 2.

При образовании анатоксина формалин соединяется с одной из амино-групп и путем какого-то вторичного преобразования дает прочное соединение, не реагирующее более с *HCl*. Кислотное отношение мало-по-малу изменяется и, наконец, достигает величины 1 : 1.

В стареющих токсинах наблюдаются явления, схожие с происходящими при созревании анатоксина: второй член отношения уменьшается, становится уже не 2, а 1,7; 1,6; 1,4, даже 1,25.

Здесь как будто происходит изменение одной из амино-групп с образованием соединения, не дающего соли с *HCl* так же, как это бывает в последовательных стадиях образования анатоксина. В то же время старение токсина сопровождается и падением токсичности.

Здесь, однако, процесс не доходит до конца спустя долгие месяцы и даже годы, тогда как действие формалина при температуре 38° завершает его очень быстро: в 4—5 недель, а иногда и меньше (2—3 нед.), токсичность исчезает, а кислотное отношение становится равным 1:1. Если отношение это зависит от отношения между количеством амидных и карбоксильных групп в молекуле токсина, приходится предположить, что одна амино-группа почему-то не подвергается действию формалина и остается в анатоксине неизмененной. Мы сделали допущение, что формалин не действует на эту группу потому, что она третичная ($-C-N=R_2$).

Для подтверждения этих предположений мы сравнивали содержание амидного азота в токсине и изготовленном из него анатоксине. Определения эти мы делали по методу Van-Slyk'a, основанному на реакции первичных аминов с азотистой кислотой. Реакция протекает по формуле:

$$RNH_2 + HNO_2 = ROH + N_2 + H_2O$$

Опыт ставился на 10 куб. см токсина или анатоксина, реакция с азотистой кислотой продолжалась 30 мин. Повторяя каждый опыт 5—6 раз, мы получали совершенно сходные результаты (разнившиеся не больше, чем на 0,1 куб. см азота).

Полученные нами результаты указывают, во-первых, на то, что анатоксин содержит амидный азот, следовательно, оставшаяся в нем группа не может быть третичным амином, а представляет собою свободную группу NH_2, которая по каким-то причинам не соединяется с формалином в условиях образования анатоксина.

Во-вторых, мы заметили, что содержание амидного азота в анатоксине значительно меньше, чем в исходном токсине (см. табл. 1). Это обстоятельство является как бы подтверждением нашего предположения, что часть амина под влиянием формалина переходит в какое-то соединение, теряющее свойства свободного амина.

Любопытно, что отношение между количествами амидного азота в токсине и получившемся из него анатоксине совершенно сходно с кислотным отношением данного токсина.

Из таблицы видно, что если мы имеем дело со свежим токсином (*К. О.* = 1:2), то в анатоксине остается ровно половина амидного азота; вторая половина, повидимому, переходит под влиянием формалина в соединение, не разлагаемое азотистой кислотой. Если же попадается токсин с *К. О.* = 1:1.6, то и отношение амидного азота в том и другом препарате есть также 1:1.6, т.-е. подверглась действию формалина уже не половина всего амидного азота исходного

Табл. 1.

№№ токс.	№№ анато-ксинов.	Кислотн. отнош. токсинов	Отн. амидного *N* анатокс. и токс.
78/I	20/I	1 : 2	1 : 1.94
43/II	24/II	1 : 1.6	1 : 1.65
48/I	25/I	1 : 1.5	1 : 1 57
40/II	37/II	1 : 1.58	1 . 1.5
76/II	36/I	1 : 1.64	1 : 1.6
81/I	34	1 : 2	1 : 2.05
89/I	37/I	1 : 1.76	1 : 1.68
76/I	38/III	1 : 1.6	1 : 1·61
100/I	40/I	1 : 2.06	1 : 2

токсина, а только часть этой половины (0,6), именно столько сколько оставалось неизмененным в процессе старения токсина.

Приходилось снова вернуться к предположению, что остальная часть при естественном старении токсина подверглась изменениям, уже лишившим ее свойств свободного амина, т.-е. сходным с теми, которые производит формалин. Может быть, это является подтверждением мысли о тождественности токсоидов с анатоксинами (Löwenstein, Kraus, Glenny и др.).

Полученные нами результаты находятся также в соответствии с утверждением американских авторов (Park и Zingher), что количество формалина, необходимого для изготовления анатоксина, зависит от количества аминокислот (измеряемого количеством амидного азота) в исходном токсине.

Здродовский и Халяпина [2]), работавшие над тем же вопросом, пришли к заключению, что количество формалина может быть значительно меньше того, которое требуется для полного насыщения аминов.

Пример:

амидный азот в исходном токсине 0,137%
эквивалентное ему количество формалина . . . 0,83%

Между тем прибавление только 0,5% формалина дало уже хорошие результаты.

Может быть, 0,5% формалина достаточно потому, что только часть аминов реагирует с формалином (половина или даже меньшая часть общего количества).

Выводы.

1) Дифтерийные токсины и анатоксины содержат амидный азот.

2) Отношение количеств амидного азота в анатоксине и исходном токсине совпадает с кислотным отношением последнего.

3) Под влиянием формалина одна из двух амидных групп токсина переходит в соединение, теряющее свойство свободного амина.

4) Сходное явление наблюдается при естественном старении токсинов, но здесь процесс протекает чрезвычайно медленно и даже в течение долгих месяцев и лет не доходит до конца.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Киссина, Д. и Бронштейн, Л. — Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 56.
2. Здродовский и Халяпина. — Centralbl. f. Bakt. Bd. 103.

Из Бактериологического Ин-та им. Пастера. Ленинград.

К вопросу о приготовлении токсина для реакции Schick'a на боратно-буферном растворе[1])

Н. А. Вержиковский и Е. Ф. Гогин.

Общеизвестная нестойкость разведений дифтерийного токсина в физиологическом растворе поваренной сили причиняет в практической работе с реакцией Schick'a чрезвычайно большие неудобства, особенно при широко развернутой массовой работе. Необходимость пользоваться всегда свежим препаратом (срок годности Schick'овских разведений в практике считается равным двум суткам) требует от лаборатории ежедневного быстрого изготовления и разливки препарата, а от прививающего врача получения токсина из лаборатории *ex tempore*, а также и неизбежного уничтожения оставшегося от работы токсина. Очевидно, что эти условия сильно усложняют и удорожают работу с Schick'овским токсином[2]) и вполне понятен поэтому интерес, с которым отнеслись иммунологи к предложению Glenny, Waddington and Pope приготовлять его не на обычном физиологическом растворе *NaCl*, а на буферном боратном растворе, в котором, по данным авторов, токсин сохраняет свою полную силу гораздо дольше.

Раствор, предложенный авторами, имеет состав:

57 г кристаллической буры $Na_2B_4O_7 \cdot 10\,H_2O$
84 г борной кислоты H_3BO_3
99 г хлористого натра $NaCl$

на 16 литров дестиллированной воды, т.-е. 1,5% раствор смеси названных веществ. Раствор имеет $p_H = 8{,}0 - 8{,}4$, не раз-

[1]) Доложено на Научной Конференции Бактериологического Ин-та им. Пастера 5 марта 1929 г.

[2]) По примеру английских авторов мы употребляем выражение „Schick'овский токсин" для краткого обозначения разведения дифтерийного токсина, употребляющегося для производства p. Schick'a, т.-е. содержащего в 0,2 куб. см $^1/_{40}$ *Dlm.*;

рушается при автоклавировании, изотоничен с плазмой крови. Сам по себе при внутрикожном введении не вызывает никакой реакции, обладает антисептическими свойствами, защищающими его от прорастания и значительной буферностью. Дифтерийный токсин, разведенный в таком растворе в концентрации, употребляемой для реакции Schick'a, по данным авторов, сохраняется гораздо дольше, чем разведенный в обычном физиологическом растворе поваренной соли. Не указывая определенных сроков сохраняемости Schick'овских разведений токсинов в боратном растворе, авторы в своем сообщении отмечают, что разные серии токсина сохраняют свою силу в боратном растворе в течение разных сроков. Так, один токсин сохранил всю свою силу в течение 14 недель при комнатной температуре, другой же только в течение 4 недель.

Еще до опубликования в печати цитированного сообщения начались работы среди английских исследователей по проверке предложенного раствора и вскоре появились работы, посвященные оценке этого способа приготовления Schick'овского токсина. O'Brien, Okell и Parish устанавливают опытами на животных длительность сохранения Schick'овского токсина в полной силе в течение 2—4—6 недель при комнатной температуре и 3—6 месяцев при содержании в леднике. Они же ставили реакции Schick'a на детях параллельно свежеразведенным токсином и токсином, хранившимся некоторое время. При этом на леднике хранившийся токсин давал полной силы реакции через 5 недель после приготовления, а некоторые разведения давали еще вполне ясные положительные реакции и через 6 месяцев хранения. В выводах авторы устанавливают срок хранения в 2 недели при комнатной температуре.

Alex. Joe и Mc Entee смело высказываются о достоинствах боратно-буферного раствора тоже на основании одновременных реакций у детей на свежеразведенный и хранившийся токсин. Разведения токсинов авторы получали из лаборатории по почте. В своих выводах авторы считают срок годности токсина при хранении в комнатной температуре 4 недели и при хранении на леднике 4 месяца.

В русской литературе вопросу о боратно-буферном растворе посвящена работа В. А. Крестовниковой. Опытами на животных и работой на детях подтверждается индифферентность раствора и его выгодность для приготовления Schick'овских токсинов. При хранении на леднике токсин сохранил свою силу на желаемой высоте в течение $2^1/_2$ месяцев.

Мы считаем необходимым отметить, что все приведенные суждения о преимуществах боратно-буферного раствора перед физиологическим раствором *NaCl* в деле приготовления Schick'овского токсина основываются на сравнительном внутрикожном испытании хранившихся в течение разных сроков токсинов параллельно со свежеразведенными.

К сожалению, даже в опытных руках техника внутрикожного введения допускает значительные возможности неточностей, благодаря малому объему вводимого материала и физическим осо-

бенностям интракутанного впрыскивания. По данным Park'а, например, при одновременном впрыскивании даже одного и того же токсина Schick'а в разные руки в 2% случаев получаются разные результаты у одних и тех же ребят. Кроме того, при чтении реакций очень трудно отметить негрубые различия в степени их, а как раз по степени реакции и делается вывод о сравнительной силе токсинов. Быть может нечеткостью получающихся результатов отчасти и объясняется обращающая на себя внимание неопределенность сроков сохраняемости Schick'овских токсинов, даваемых авторами.

Приступая к знакомству с боратно-буферным раствором, мы считали необходимым прежде всего избрать метод более точно и объективно устанавливающий малейшие изменения в силе наших разведений. Лаборатория должна гарантировать полную силу выпускаемого строго стандартизуемого токсина для р. Schick'а в течение всего указанного срока годности, т. к. если будет отпущен токсин, утративший хотя бы небольшую часть своей силы — он определит более низкий уровень иммунитета, чем тот, который открывается требуемой дозой токсина и который принят сейчас за критерий невосприимчивости против дифтерии, указывающий на необходимость иммунизации.

Мы испытывали наши разведения на смерть, следуя тому простому расчету, что если 0.2 нашего разведения содержит $^1/_{40}$ минимальной смертельной дозы, то в 8.0 куб. см содержится одна миним. смерт. доза. При минимальном ослаблении токсина свинка от дозы в 8.0 куб. см не умрет или умрет в опозданием.

К сожалению, этот способ требует большого количества свинок и их недостаток сильно урезал размеры нашего опыта. Пользовались мы для разведения токсина всегда одной и той же посудой и одним и тем же шприцем для впрыскивания.

Для испытаний брались свинки весом от 245 — до 280 г, всего под опыты пошло 52 свинки. Испытывались разведения 4 серий дифтерийного токсина: № 372 свежий (1 мес.), № 18 старый ($3^1/_2$ года), № 321 (1 год) и № 327 (1 год).

Исследовались условия хранения на леднике (+ 2° С), в термостате (37° С) и при комнатной температуре зимней (13 — 15° С) и летней (22 — 25° С). Сравнивалась сохраняемость силы разведений токсинов на боратном растворе и на физиологическом растворе *NaCl*.

При работе мы многократно могли убедиться в антисептических свойствах боратно-буферного раствора. Загрязненные естественным образом воздушной флорой токсины на боратно-буферном растворе ни разу не проросли, в то время как на физиологическом растворе *NaCl* они неизменно прорастали даже при комнатной температуре.

Полученные нами данные о сохраняемости токсинов в разведенном виде приведены в таблице.

Из этих данных видно, что при хранении на леднике все 3 испытанные токсина сохранились в боратно — буферном растворе очень хорошо. Без потери в силе токсины №№ 18 и 372

при этих условиях сохранились более 168 суток и меньше 332 суток, токсин № 321 более 64 суток и менее 192. В промежуточные сроки испытаний не было. Общий минимальный срок в два месяца представляет для практики уже очень большие удобства.

Табл. 1

№№ токсинов	Доза токсина в 8,0 куб. см разведения (= 1 *Dlm*)	Продолжительность хранения в сутках				Испытание	
		Всего	При температуре			Боратно буферных разведений	Разведений на физ. растворе *Na Cl*
			+ 2° — 4°	13 — 15°	22 — 25°		
321	0.0034	1	—	1	—	†*)	†
		6	—	6	—	†	
		6	4	—	2	жива	
		10	—	10	—	†	жива
		21	21	—	—	†	†
			14	7	—	†	жива
		31	31	—	—	†	
			14	17	—	†	
			26	—	5	жива (смерть на 7-е сутки)	
		50	48	—	2	жива	
		64	64	—	—	†	
			26	38	—	жива	
		192	192	—	—	жива	
327	0.0026	0	—	—	—	†	†
		2	—	2	—	†	†
		8	—	8	—	жива	жива
		263	263	—	—	жива	
18	0.011	0	—	—	—	†	†
		2	2	—	—	†	†
		4	—	4	—	жива	жива
		6	—	6	—	жива	жива
		47	47	—	—	†	жива
		168	168	—	—	†	
372	0.0016	33	33	—	—	†	
		38	38	—	—	†	
	0.0018	47	47	—	—	†	жива
		168	168	—	—	†	
		332	332	—	—	жива	

Schick'овские токсины, приготовленные на обычном физиологическом растворе *NaCl*, теряли свою силу гораздо быстрее.

Обратные, но тоже общие для двух испытанных Schick'овских токсинов результаты получились при хранении их при 37° С. Оба токсина даже в гораздо более концентрированных разведениях выявили очень быстрое ослабление в течение первых же суток. Испытания этих разведений мы проводили внутрикожным методом, так как изменения в силе были велики и хорошо демонстрировались и этим способом. В таблице эти испытания не приведены.

*) ть свинки на 3—4 сутки.

Сильно отличалось поведение трех испытанных Schick'овских токсинов, хранившихся при комнатной температуре от 13 до 15° С. Два токсина — №№ 18 и 327 — сохранили свою полную силу лишь на очень краткие сроки — первый на двое суток (менее 4 суток), второй более двух и менее восьми суток. В течение этих же сроков сохранились и контрольные разведения на физиологическом растворе *NaCl*. Наоборот, токсин № 321 оказался в боратном растворе гораздо более устойчивым и сохранил полную свою силу свыше 17 суток после того как предварительно хранился две недели на леднике. Разведение на физиологическом растворе *NaCl* не сохранилось и 7 дней. Этот токсин вообще показал значительно большую устойчивость: так, на леднике разведения его на физиологическом растворе *NaCl* сохранились до 21 дня. Срок в 2½ недели при 13—15° С (зимняя комнатная температура) практически чрезвычайно удобен.

Эти данные убеждают нас с несомненностью в том, что разные серии токсинов обладают различной устойчивостью в разведенном состоянии даже и в боратно-буферном растворе (подтверждение данных Glenny, Waddington и Pope) и что не представляется возможным установить одного общего для всех токсинов срока хранения при комнатной температуре (даже 15° С). Вместе с тем ярко демонстрируется влияние температуры на сохраняемость токсинов. Так, при 22—25° даже сравнительно хорошо сохраняющийся в других услових токсин серии 321 не сохранил полной своей силы на боратном растворе и в течение двух суток. Поэтому мы считаем, что зависимость сохраняемости токсинов Schick'a от температуры всегда следует особенно подчеркивать и не употреблять термина „комнатная температура", а указывать температуру в градусах.

Теоретически такое различное отношение токсинов к сохраняемости в разведенном состоянии представляет большой интерес.

Практически же мы считаем необходимым для каждой серии дифтерийного токсина устанавливать его отношение к разведению в боратно-буферном растворе и срок хранения при „комнатной температуре", производя для этого через определенные промежутки времени впрыскивания свинке 8,0 куб. см хранящегося токсина.

Установленный для данной серии исходного дифтерийного токсина срок его сохраняемости указывается прививающему врачу.

Для хранения на леднике этого не требуется, и срок в 2 мес. может быть, вероятно, признан общим для всех выдержанных и не представляющих каких-либо ненормальностей в других отношениях токсинов. Такое испытание не загромождает сильно лаборатории, и незначительное усложнение техники с избытком компенсируется удобствами употребления такого подобранного в отношении сроков хранения токсина. Раз подобрав такой токсин, можно им пользоваться очень долго, так как для приготовления Schick'овского токсина нужны незначительные количества исходного токсина.

ВЫВОДЫ

1. Боратно-буферный раствор Glenny, Waddington и Pope является несомненно более благоприятным растворителем для дифтерийного токсина, чем обычный физиологический раствор *NaCl*.

2. Антисептические свойства этого раствора ясно выражены и являются одним из важнейших его преимуществ.

3. Разные серии дифтерийного токсина сильно различаются между собой по сохраняемости в разведенном состоянии. Поэтому выпускать для более или менее продолжительного хранения Schick'овский токсин, приготовленный на боратно-буферном растворе, возможно лишь после изучения данной серии токсина в отношении сохраняемости его на названном растворе при определенных температурах. Испытывать должно окончательное разведение токсина для р. Schick'a на смерть свинки (введение 8,0 куб. см).

ЛИТЕРАТУРА

1, Glenny, Waddington and Pope. — Journ. of Pathol. and Bact. XXXI, 133, 1928. 2. O'Brien, Okell and Parish.—Public Health. 41, 181. 1928. 3. Alex. Joc and Mc. Entee. — The Journ. of Hygiene. 28, № 1, 1928 4. В. А. Крестовникова. — Врачебная газета, № 17, 1165, 1928.

Из I-го Украинск. Гос. Сан. Бактериол. Ин-та. им. И. И. Мечникова и Военно-Ветерин. Бактериол. Лаборатории. Харьков.

Стрептококковый токсин и антивирус.

Л. Л. Кандыба и И. Я. Садовский.

Сообщение 4-е. Опыты на жеребятах местной иммунизации к стрептококку.

Опыты по местной иммунизации жеребят против мытного стрептококка велись на двадцати жеребятах — 15 мытных реконвалесцентах и 5 свежих, не болевших мытом, все возрастом 6 — 9 месяцев.

Употребляемый для опытов мытный штамм № 500, вирулентный для морских свинок, кроликов и кошек, сохранялся на среде Ungermann'a (неразведенная инактивированная лошадиная сыворотка) при пересевах не чаще, чем через каждые 4 месяца.

0,5 куб. см суточной бульон-сывороточной культуры этого штамма вызвал у мытного реконвалесцента при подкожной инъекции образование ограниченного абсцесса; меньшие дозы (0,05 — 0,2 куб. см), не вызывая обычно абсцесса при подкожном введении, при дермальной аппликации всегда приводили к местным воспалительным явлениям, в виде ограниченных абсцессов размером с волошский орех. У свежих неболевших мытом жеребят дозы 0,06 — 0,3 куб. см суточной культуры давали более резкие по чувствительности и величине воспалительные инфильтраты и последующие абсцессы, сопровождавшиеся некрозом.

Опыты на жеребятах велись в двух направлениях: 1) изучалась возможность дермальной вакцинации отдельных кожных участков с помощью стрептококкового токсина, токсоида и антивируса против последующего заражения тех же участков мытным стрептококком и 2) определялось действие названных препаратов при одновременном их введении с культурой стрептококка.

Отдельные, отстоящие друг от друга — обычно на шее, плече и холке — кожные участки размером в 60—100 кв. см после депилирования (выбривания) обрабатывались дермальными инъекциями малых доз (по 0,2—0,4 куб. см в каждый пункт при 15—20 инъекционных пунктах на каждом участке) испытуемых препаратов (токсин, токсоид, антивирус, контроли в виде бульонов различных

сортов) и затем через 3—4 дня, иногда позже, заражались дермально или подкожно определенной заранее вытитрованной дозой культуры мытного штамма № 500.

Переходим к изложению опытов.

Опыт № 1. 4 переболевших мытом жеребят №№ 11, 13, 16 и 17 — обработаны следующим образом: у каждого жеребенка в 3 кожных участка, предварительно выбритых, введено дермально *en nappe* по 10,0 куб. см: 1) мытного токсина (в данном опыте и во всех последующих брался всегда более или менее устаревший токсин, приготовленный на бульоне Parck'a с 1% кровью лошади, употреблявшийся одним из нас для иммунизации лошадей с целью получения антитоксической мытной сыворотки), 2) того же токсина, прогретого при 60° С в течение получаса (токсоида), 3) поливалентного антивируса из мытных стрептококков на 2% медовом бульоне. 4-й участок оставался контрольным. Через трое суток эти четыре участка у всех жеребят были заражены дермально по 0,05 куб. см суточной сывороточно-бульонной культуры стрептококка № 500.

Результаты опыта таковы: I. Жеребенок № 11. Все иммунизованные участки через 6 дней приходят в норму после небольших воспалительных явлений, при чем самые незначительные явления наблюдались на участке, обработанном антивирусом. К тому же сроку на контрольном участке развивается абсцесс с лесной орех.

II. Жеребенок № 13. Абсцессы образуются на токсинном и контрольном участке, на первом с лесной орех — через 4 дня после заражения, на втором с волошский орех — через 10 дней. На токсоидном и антивирусном участках — минимальные реактивные явления в виде незначительных инфильтратов (с горошину), уже через четыре дня рассосавшихся без следа.

III. Жеребенок № 16. Все иммунизированные участки к четвертому дню после заражения представляются нормальными (после незначительных инфильтратов). На контрольном участке к тому же сроку — инфильтрат 6 × 6 см, давший еще через 4 дня абсцесс с некрозом 2 × 2 см.

IV. Жеребенок № 17. Все иммунизированные участки уже через два дня — в норме. На контрольном образуется инфильтрат с крупную горошину, который держится 8 дней и затем рассасывается без абсцесса. (№ 17 тяжело переболел мытом).

Согласно нашим обозначениям, результат этого опыта представляется в такой табличке:

	—	0	N
Контроль из 4	3	1	—
Токсин „ 4	1	3	—
Токсоид „ 4	—	4	—
Антивирус „ 4	—	4	—

Таким образом, мы видим ярко выраженный феномен местного иммунитета различных участков кожи у одного и того же жеребенка, в зависимости от предварительной обработки. Наиболее иммунными оказались участки кожи, обработанные антивирусом и гретым то-

ксином. Негретый токсин не оказал негативного влияния и дал местно-иммунизирующий эффект, уступая, впрочем, антивирусу и гретому токсину.

Опыт № II. Жеребята №№ 18 и 19, мытные реконвалесценты. Обработка трех участков, как в предыдущем опыте, теми же препаратами. Заражение участков — через 4 дня по 0,2 куб. см суточной культуры № 500 в кожу.

У обоих жеребят на всех участках развиваются абсцессы, наименее выраженные на антивирусном и токсоидном (с лесной орех на последних и с волошский на токсинном и контрольном).

Таким образом, при такой же постановке опыта, но при увеличении *Contagionsindex*'а примерно в 4 раза, местно-иммунизирующее действие токсоида и антивируса уже оказывается недостаточным для предохранения от развития абсцесса, но, однако, иммунизаторный эффект все же налицо, так как абсцессы на участках, обработанных токсином и контрольном, вдвое больше, чем на антивирусном и токсоидном.

Опыт № III. Жеребята №№ 20 и 21, мытные реконвалесценты. Обработка участков, как выше, но заражение через 4 дня под кожу по 0,5 куб. см того же стрептококка.

У жеребенка № 20 через сутки — везде инфильтрация однородного характера; через 5 дней после заражения на участках, иммунизированных антивирусом и токсоидом — норма; на контрольном — болезненный выступающий инфильтрат 6 × 6 см, не перешедший, однако, в абсцесс; на токсинном участке к тому же времени — плотная инфильтрация всего участка, рассасывающаяся без абсцессов. Таким образом, на этом жеребенке местно-иммунизирующее действие антивируса и токсоида выразилось не так ясно, как на предыдущих жеребятах, несмотря на относительно слабый *Contagionsindex* и несмотря на применение десятикратной, вызывающей абсцесс дозы.

У № 21 все обработанные участки через четыре дня после заражения имеют нормальный вид. На контрольном участке развивается огромный сильно чувствительный инфильтрат, размером 7 × 7 × 4 см, который через три недели абсцедирует и дает глубокий некроз 6 × 6 см.

Таким образом, в данном опыте даже при увеличении дозы в десять раз сравнительно с первым опытом, ясно выявилось местно-иммунизаторное действие антивируса, токсоида и токсина, при чем преимущество первых двух препаратов оттенено.

Формулировка этого опыта в наших обозначениях такова:

	—	0	N
Контроль из 2	1	1	—
Токсин „ 2	—	1	1
Токсоид „ 2	—	—	2
Антивирус „ 2	—	—	2

Опыт № IV. Жеребята №№ 15 и 16, мытные реконвалесценты. Оба жеребенка за месяц до опыта получили по 0,05 — 0,1 куб. см живой культуры и таким образом являются более иммунизирован-

ными к стрептококку, чем предыдущие. Обработка участков, как выше: 1) поливалентным антивирусом, 2) сывороточным бульоном и 3) медовым бульоном. 4-й участок — контроль. Каждый участок через три дня заражен внутрикожно по 0,08 куб. см суточной сывороточно-бульонной культуры № 500.

У жеребенка № 15 через 10 дней после заражения, а у жеребенка № 16 через четыре дня, все иммунизированные участки приходят в норму (после незначительного уплотнения не больше горошины). Максимальные явления наблюдаются на контролях, однако, и здесь процесс не доходит до образования абсцесса: инфильтраты дольше держатся — до 2 недель, — но рассасываются без следа.

Как и следовало ожидать, благодаря относительному уменьшению инфекта, так как жеребята получили за месяц до опыта почти ту же дозу стрептококка, иммунитет их (общий) несомненно возрос, создался таким образом небольшой *Contagionsindex* и при сравнительно небольшом размахе инфекции для ее смягчения уже оказалось достаточным то предварительное раздражение тканевых элементов, которое дает обработка бульоном и сывороткой. Поэтому и наметилось повышающее местную резистентность тканей действие протеинов. Наши условные обозначения дают такую формулировку опыта:

Контроли	из 2 участков	0	2
Антивирус	„ 2 „	0	2
Сыв. бульон	„ 2 „	0	2
Сах. бульон	„ 2 „	0	2

Опыт № V. Жеребенок № 24, неболевший мытом. На одной стороне загривка обработаны 3 участка кожи дермальными инъекциями, как выше, по 5 куб. см токсина на каждый участок; два участка другой стороны — по 5 куб. см того же токсина, прогретого один час при 60° С; третий участок той же стороны оставлен контрольным. Через 10 дней каждый из этих участков инъецирован под кожу по 0,5 куб. см суточной культуры № 500.

Результаты: максимум воспалительных явлений на контрольном участке (инфильтрат 10 × 12 см, абсцесс с некрозом 3 × 5 см); на двух из трех токсинных участков и на одном из двух токсоидных бывшие в первые дни небольшие инфильтраты величиной с лесной орех рассасываются без перехода в абсцесс к 12 — 15 дню после заражения; остальные участки — один токсоидный и один токсинный — дают абсцессы с голубиное яйцо без некротических явлений. Пользуясь нашими условными обозначениями, мы имеем:

Токсин	из 3 участков	1	0	2
Токсоид	„ 2 „	1	0	1
Контроль	„ 1 „	1		

Таким образом, оказывается, что местно-иммунизирующее действие токсоида и инактивного токсина сказывается и при сравнительно очень большом *Contagionsindex'e*, так как для свежего жеребенка взята примерно 10-кратная абсцессная доза, а испытание произведено через 10 дней после обработки, когда уже следовало бы

ожидать развития общего иммунитета, а не явлений местного. При этом сроке негативное местное влияние токсина уже сгладилось. Замечательно, что местный иммунитет еще выражен при этом сроке. Кроме того, необходимо отметить, что жеребенок безнаказанно перенес 3,0 куб. см культуры вирулентного мытного стрептококка.

Опыт № VI. Жеребенок № 26, неболевший мытом. Дермальная иммунизация, как выше, по 5 куб. см пяти кожных участков: 1) токсином, 2) токсоидом (прогревание один час при 60° С), 3) мытным антивирусом (медовый бульон), 4) медовым бульоном и 5) сывороточным бульоном. 6 участок служит контролем. Каждый участок заражен через 4 дня по 0,5 куб. см суточной сывороточно-бульонной культуры № 500 под кожу.

Через три дня после заражения мы отмечаем: максимум воспалительной реакции на контроле (инфильтрат с отеком 7×4 см). Затем следует медовый бульон (инфильтрат с куриное яйцо); на участках сывороточно-бульонном и токсинном — небольшие инфильтраты с лесной орех; на токсоидном и антивирусном участках — никаких явлений. Через 11 дней на контрольном участке развивается абсцесс величиной с волошский орех с некрозом $1^1/_2 \times 1^1/_2$ см, на остальных участках явления исчезают. По нашей схеме мы имеем:

Контроль —; токсин — 0; токсоид — N; Антивирус — N; сыв. бульон — 0; мед. бульон — 0.

Таким образом, в данном опыте не только ярко выявилось местно-иммунизирующее действие антивируса и токсоида, но и достаточно ясно обрисовалось повышающее местную резистентность действие сывороточного и сахарного бульона. Так как из опытов на кошках вытекает, что это влияние протеинов может иметь место лишь при небольшом *Contagionsindex'e*, а для данного опыта подготовлен большой индекс (свежий жеребенок и 10-кратная абсцессная доза), то результат опыта заставляет предполагать природную повышенную резистентность жеребенка к мытному стрептококку.

Опыт № VII. Жеребята №№ 39, 40, неболевшие мытом. Обработка, как выше, препаратами другого приготовления по 5 участков кожи у каждого жеребенка. Заражение через 3 дня под кожу по 0,5 куб. см того же стрептококка в каждом участке. 6 участок — контрольный.

Результаты опыта таковы. Жеребенок № 39. Наибольшая реакция на токсинном участке (абсцесс $3 \times 3 \times 2$ см с некрозом 1×1 см через 12 дней). К этому же времени абсцессы с волошский орех на контрольном (позже на нем развился еще один небольшой абсцесс) и на сывороточно-бульонном участках. На сахарно-бульонном участке — инфильтрат с волошский орех, позднее перешедший в абсцесс. На токсоидном и антивирусном участках первоначальная расплывчатая инфильтрация переходит в норму через 10 дней после заражения.

Жеребенок № 40. Через 7 дней после заражения: токсинный участок — очень чувствительный инфильтрат 10×10 см, абсцесс с некрозом 3×3 см; контрольный участок — сплошная инфильтрация, абсцесс с некрозом 3×3 см; сывороточно-бульонный уча-

сток — закрытый абсцесс $10 \times 10 \times 4$ см, вскрывшийся затем с некрозом $3 \times 1^1/_2$ см и еще с одним некротическим пунктом в виде глубокой щели впоследствии; сахарный бульон — абсцесс с волошский орех с некротическим центром; токсоидный участок — прощупывается небольшое уплотнение, на другой день — норма; антивирусный участок — норма (после небольшого плотного инфильтрата с лесной орех накакуне).

Согласно нашим условным обозначениям, мы в данном опыте имеем:

Контроль	из 2 участков	—	2
Токсин	„ 2 „	—	2
Токсоид	„ 2 „	0	2
Антивирус	„ 2 „	0	2
Сыв. бульон	„ 2 „	—	2
Сах. бульон	„ 2 „	—	2

Таким образом, на нормальных жеребятах при большом *Contagionsindex'e* (10 абсцессных доз) обнаружилось местно-иммунизирующее действие только у токсоида и антивируса, в противоположность сывороточному и сахарному бульону. Отсутствие иммунизирующего действия на токсинном участке указывает, что токсин еще не превратился окончательно в токсоид, но, с другой стороны, отсутствие явно агравирующего влияния на инфекцию указывает уже на падение активной ядовитости его для тканей.

В противоположность другим животным, как это проходит красною нитью во всей соответствующей литературе, на жеребятах нам удалось обнаружить достаточно мощное действие токсоида и антивируса при одновременном их введении в виде смеси с культурой стрептококка, как это можно видеть из следующих опытов.

Опыт № VIII. Жеребята №№ 29 и 26, мытные реконвалесценты. В 6-ти различных, удаленных друг от друга участках на шее, по загривку, введены под кожу следующие смеси, приготовленные *ex tempore*: 1) 0,5 куб. см суточной сывороточно-бульонной культуры стрептококка № 500 + 0,5 куб. см мытного токсина, 2) смесь из 0,5 культуры и 0,5 куб. см того же токсина, прогретого в течение часа при 60° *C* (токсоида), 3) смесь из 0,5 куб. см той же культуры и 0,5 куб. см поливалентного мытного антивируса на сахарном бульоне, 4) 0,5 куб. см культуры + 0,5 куб. см сахарного бульона, 5) 0,5 куб. см той же культуры + 0,5 куб. см сывороточного бульона (бульон Aldershof'a + 10% лошадиной сыворотки) и 6) 0,5 куб. см одной только культуры.

Результаты опыта таковы. Жеребенок № 29. — Через три дня после заражения: на участке токсин + культура — флюктуирующая, чувствительная опухоль $6 \times 5 \times 2$ см; на участках контрольном и сахарно-бульонном + культура — инфильтраты с волошский орех; на участках сывороточно-бульонном + культура и антивирус + культура — только чувствительность. В дальнейшем: на токсинном участке — абсцесс с некрозом $1^1/_2 \times 1^1/_2$ см через 4 дня после заражения; на контроле и сахарно-бульонном участке — абсцессы через 9 дней после заражения; на сывороточно-бульонном участке — абсцесс через 17 дней после заражения; на токсоидном участке

через 10 дней и на антивирусном через 19 — норма (без абсцессов и инфильтратов).

Жеребенок № 26. — Максимум реактивных явлений наблюдается на участке, зараженном смесью из токсина и культуры (инфильтрат с гусиное яйцо, абсцесс с некрозом $1^1/_2 \times 1^1/_2$ см через 8 дней); затем следуют: контрольный участок (инфильтрат с волошский орех, абсцесс через 10 дней), участок сахарно-бульонный + культура (инфильтрат с волошский орех и абсцесс через 12 дней), участок сывороточный бульон + культура (инфильтрат с куриное яйцо и абсцесс через 15 дней). Иммунитет обнаруживают только участки, зараженные смесями токсоид и антивирус + культура: на первом из них уже через 5 дней после впрыскивания отмечается только небольшая чувствительность и через 10 дней нормальное состояние, на втором чувствительность участка держится две недели и затем — норма. На токсинном участке впоследствии образовался еще один некротический пункт.

Пользуясь нашими условными обозначениями, мы в этом опыте имеем:

Контроль	из 2 участков	—	2	
Токсин	„ 2 „	=	2	(условное обозначение максимума реакт. явл.).
Токсоид	„ 2 „	0	2	
Антивирус	„ 2 „	0	2	
Сыв. бульон	„ 2 „	—	2	
Сах. бульон	„ 2 „	—	2	

Таким образом, в этом опыте при одновременном введении культуры и иммунизирующих препаратов обнаружилось: 1) что стрептококковый токсин обладает аггравирующим в отношении инфекции действием, 2) что повышающее резистентность тканевых элементов действие сывороточного и сахарного бульона сводится при известных условиях к 0 и 3) что в то же время остается ярко выраженным местно-иммунизирующее свойство только у токсоида и антивируса. Этот блестящий успех опыта покоится, однако, больше на очень удачно подобравшемся *Contagionsindex'e*. Повторяя ту же самую постановку опыта на другом жеребенке, мы уже не смогли получить такого эклатантного результата, благодаря тому, что *Contagionsindex*, зависящий и от условий индивидуально-конституциональной резистентности, оказался сравнительно очень высоким, как это видно из опыта № IX с жеребенком № 22 (реконвалесцент). Опыт дал следующий результат: на всех участках развились абсцессы с максимумом воспалительных явлений на токсинном (инфильтрат с ладонь, абсцесс $4 \times 4 \times {}^1/_2$ см, два некроза 3×3 и 1×1 *см*), на остальных участках — абсцессы величиной с волошский орех с некрозом 1×1 см, на токсоидном — такой же абсцесс, но без некроза. В наших обозначениях мы имеем:

Контроль: —; Токсин: =; Токсоид: —; Антивирус: —; Сыв. бульон: —; Сах. Бульон: —.

Таким образом, *Contagionsindex* оказался настолько велик, что токсоид и антивирус не дали ясного иммунизаторного эффекта; все же вполне отчетливо обрисовалось аггрессивное действие токсина, сказавшееся величиной абсцесса и некроза, и некоторое иммунизаторное влияние одного токсоида, выразившееся в отсутствии некротических явлений.

Чистота, ясность результатов подобных опытов зависит от создающейся в опыте величины *Contagionsindex'a*, на которую влияют конституционально-индивидуальные колебания резистентности жеребят и которую далеко не всегда можно преодолеть путем предварительного расчета. Это демонстрируется еще опытом № X с жеребенком № 32, мытным реконвалесцентом, который был обработан, как предыдущие жеребята, но только смесями не из 0,5 куб. см препарата + 0,5 куб. см культуры, а из 1,75 куб. см препарата + 0,25 куб. см суточной сывороточно-бульонной культуры стрептококка № 500, с целью понизить индекс. Результат показал, однако, что мы этого не достигли, а именно: на всех участках, кроме токсоидного, развиваются абсцессы в среднем величиной с волошский орех к 9 — 11 дню после заражения, на токсинном участке с некрозом 2 × 2 см, на сывороточном участке с небольшим некрозом. Токсоидный участок обнаруживает в это время только чувствительность. Однако, и на этом участке формируется инфильтрат, перешедший к 16-му дню в небольшой абсцесс величиной в лесной орех, с ничтожным нагноением.

Контроль: —; Токсин: —; Токсоид: 0; Антивирус: —; Сыв. бульон: —; Сах. бульон: —.

Таким образом, благодаря высокому индексу этого опыта, не только не проявились местно-иммунизирующие свойства сывороточного и сахарного бульона, но и антивируса, а иммунизирующее действие токсоида выразилось сравнительно слабо. Все же и на этом жеребенке необходимо отметить эффект местной иммунизации токсоидом при одновременном введении его с культурой.

Подобное явление, относящееся к антивирусу, наблюдается в следующем опыте.

Опыт № XI. Жеребенок № 23, мытный реконвалесцент. Инъецировано под кожу различных участков: 1) в двух пунктах смеси из 0,5 куб. см суточной сывороточно-бульонной культуры стрептококка № 500, и 0,5 куб. см токсина, 2) в двух пунктах смеси из 0,5 куб. см той же культуры и 0,5 куб. см токсина, гретого один час при 60° С, 3) в одном пункте смесь из 0,5 куб. см той же культуры и 0,5 куб. см токсина, гретого один час при 100° С и 4) в одном пункте смесь из 0,5 куб. см той же культуры и 0,5 куб. см мытного антивируса.

Опыт дал следующие результаты: через неделю на обоих токсинных участках наблюдаются плотные инфильтраты с волошский орех; на обоих токсоидных (токсин гретый, при 60° С) только чувствительность; на 3-ем токсоидном (токсин, гретый при 100° С) и антивирусном участках — норма. В дальнейшем инфильтраты и на токсинных участках рассасываются без абсцессов. По нашим обозначениям мы имеем в этом опыте:

Токсин	из 2 участков	0	2
Токсоид	„ 3 „	N	3
Антивирус	„ 1 „	N	1

Таким образом, и в этом опыте, несмотря на отсутствие контроля, можно отметить местно-иммунизирующее действие токсоида и антивируса при введении их одновременно культурой, и, кроме того, выраженное, по крайней мере сравнительно с первыми препаратами, аггравирующее инфекцию влияние стрептококкового токсина.

* * *

Анализируя результаты опытов на жеребятах, мы прежде всего должны отметить, что нам удалось наблюдать феномен местного иммунитета, связанный исключительно с местной иммунизацией участков кожи, ярко выраженной во всех наших опытах, за исключением №№ II, IX и X, которые, хотя и не дали полного результата, но все же оттенили весьма достаточно этот феномен с положительной стороны. Негативный результат опыта № IV, повидимому, зависит от недостаточности инфекционной дозы и неправильной методики опыта. Как видно из этого опыта, а также опытов №№ VI, VII и VIII, неспецифическим протеинам (сывороточный и сахарный бульон) также свойственно местно повышать резистентность ткани, но только в гораздо меньшей степени, чем это выражено у специфического токсоида (антивируса). Только в том случае, когда инфекционная доза (*Contagionsindex*) невелика и для поднятия состояния иммунитета требуется лишь еще небольшое раздражение, можно констатировать положительное действие протеинов. Ни разу мы не могли отметить преимущество протеина в этом отношении в сравнении с антивирусом и токсоидом. Сила местного иммунитета ограничена определенной мощностью и для выявления ее необходимо работать с учетом *Contagionsindex'a*, составляющегося из отношения величины инфекционной дозы к аппарату конституционально-индивидуальной невосприимчивости. Местный иммунитет можно обнаружить только при определенном *Contagionsindex'e*, так же как это относится и к антитоксическому иммунитету. Отсюда, конечно, не следует, что местного иммунитета не существует. Для того, чтобы выявить его со всей ясностью, необходимо, помимо подходящего выбора животного, еще нивеллировать эту непостоянную величину индивидуальной резистентности путем предварительной искусственной общей иммунизации, как это мы сделали в своих опытах на кошках, и этим создать сравнительно однородную среду, в которой уже гораздо легче подобрать подходящий *Contagionsindex*. Только при этих условиях, учитывая количественные отношения между общей невосприимчивостью и величиной инфекционной дозы, и можно определить то место, которое принадлежит местному иммунитету. Меньше всего для опытов со стрептококком и стафилококком подходят нормальный кролик или мышь, совершенно иначе относящиеся к стрептококковой инфекции, чем человек, кошка и ло-

шадь. Этим обстоятельством методологического порядка и объясняются, по нашему мнению, те отрицательные результаты, которые получили ряд авторов.

Далее в наших опытах обращает на себя внимание двойственное поведение стрептококкового токсина: иммунизаторное и аггравирующее инфекцию. Надо полагать, что аггравирующее инфекцию действие токсина объясняется сохранностью его ядовитой части (свежий токсин), иммунизаторное действие — превращением в токсоид. В ряде наших опытов (№№ VIII, IX и отчасти X и VII) применявшийся токсин играет роль аггресина, как это известно по отношению к токсину *Bac. perfringens* [1]. В опытах же №№ I, III, V, VI и XI мы обнаруживаем, наоборот, ясно выраженное местно-иммунизирующее действие, связанное очевидно со степенью состаривания его, не учитывавшейся в этих опытах. В то же время при превращении его в токсоид путем нагревания при 60° С и 100° С, он начинает выполнять местно-иммунизирующую роль, не только не уступая в этом отношении антивирусу, но часто превосходя его по эффекту, как это видно из наших опытов. Ни в одном опыте с токсоидом не получено аггравирующего инфекцию эффекта. Стрептококковым токсинам, более или менее состарившимся, потерявшим свою активность и полностью превратившимся в токсоид, по большей части свойственно местно-иммунизирующее действие, которое, однако, значительно уступает в своей эффективности токсоиду (антивирусу). Замечательно, что неактивный токсин может обусловить развитие местного иммунитета, а не общего, даже через 10 дней после своей аппликации, как это видно из опыта № V. Таким образом надо признать за стрептококковым токсином резко выраженное сродство к тканевым элементам кожного покрова. Срок развития иммунитета на участках кожи в 3—4 дня в остальных опытах также соответствует установившемуся у нас понятию о местном иммунитете, как процессе десенсибилизации тканевых элементов, закупорки их рецепторного аппарата.

Далее необходимо отметить ту силу сродства к чувствительным элементам (*Avidität*), которую проявил стрептококковый токсоид (антивирус) и который, к нашему изумлению, позволил в опытах №№ VIII, X и XI получить с его помощью местно-иммунизаторное, даже лечебное действие при одновременном введении токсоида вместе с культурой. Этот феномен Безредки, не удавшийся кроме него еще ни одному автору, указывает на правильность наших методических предпосылок при постановке опытов и определенно говорит за то, что сродство стрептококкового токсоида к тканевым элементам сильнее сродства к соответствующему токсину. Это обстоятельство объясняет упорный факт целебного значения антивируса, отмеченный клиникой вообще и то большое лечебное действие антивируса мытного стрептококка, а в особенности пиогенного стрептококка при лечении *morbus maculosus* лошадей, которое показал один из нас (Садовский) применяя антивирус интравенозно. Оказывается, что при известных условиях и модифицированный антиген, в виде токсоида, может

дать почти такой же быстрый лечебный эффект, как и соответствующее антитело. Может быть даже, этот путь специфической терапии некоторых токсических инфекций окажется более выгодным, чем лечение соответствующим антитоксином, так как известно, например, что *Avidität* элементов нервной ткани при столбняке, дифтерии к соответствующему токсину сильнее сродства того же токсина к соответствующему антитоксину, чем объясняются неудачи поздней сывороточной терапии при этих инфекциях.

Во всяком случае опыт лечения некоторых инфекций путем парэнтерального применения определенного стрептококкового токсоида или гретого антивируса Безредки должен быть расширен, благодаря его заманчивости, с одной стороны, и беспомощности современной терапии во многих случаях, с другой.

Кроме того, выявленное нами значительное постоянство местно-иммунизирующей способности стрептококкового токсоида указывает на возможность и необходимость шире воспользоваться его специфическими превентивными свойствами для местной иммунизации тканей при производстве некоторых хирургических операций, особенно в акушерско-гинекологической практике.

Далее необходимо отметить еще одно обстоятельство, могущее иметь громадное практическое значение. Из опытов №№ V, VI и VII видно, что, пользуясь принципом локальной иммунизации при помощи токсоида и антивируса, нам удалось ввести безнаказанно по 3,0 куб. см суточной сывороточно-бульонной культуры мытного стрептококка 4 жеребятам, которые реагировали на это сравнительно легко. Жеребята, как это уже констатировано одним из нас (Садовский [5]), длительно находясь в мытной конюшне среди больных мытом, однако, не заболели. Наш опыт несомненно показывает путь к практической вакцинации жеребят против мыта. Проектируемые нами в этом направлении опыты должны выявить действительность такой активной иммунизации к мыту и решить вопрос, в какой мере нужна при такой вакцинации местная воспалительная реакция. До настоящего дня мы в совершенно другом опыте могли убедиться в том, что флегмона, развившаяся от инъекции мытного стрептококка в небольшом количестве, обусловила развитие практически полного иммунитета к мыту.

Наконец, из наших опытов на жеребятах можно вывести заключение о сущности стрептококкового антивируса. Для нас нет никаких сомнений, что главным действующим началом его, помимо протеина бульона и его дериватов, играющих второстепенную, но все же иммунизаторную роль, принадлежит стрептококковому токсоиду. Уже давно известно, что стрептококковый токсин, отличаясь в обычных условиях неуловимостью своей ядовитости в отношении животных, тем не менее в своей атоксической форме дает возможность получить соответствующий антитоксин, завоевавший уже, в виде американских и немецких антитоксических стрептококковых сывороток, прочные симпатии клиники. Стрептококковый токсин отличается чрезвычайной лабильностью своей активной части, что выявляется из изучения его отношения к нагреванию, сохраняемости, центрифугированию, фильтрованию

(особенно гемотоксической части). По аналогии с другими токсинами надо, конечно, думать, что он переходит в токсоидную модификацию, особенно при более или менее длительном хранении. Если принять во внимание что стрептококковый токсоид отличается яснымн специфическими местно-иммунизирующими свойствами, то для признания, что мы в данном случае имеем дело со стрептококковым токсином, можно пока обойтись и без лабораторного эксперимента, демонстрирующего на животном нейтрализацию стрептококкового токсина соответствующим антитоксином. Надо полагать, что при приготовлении антивируса на обычных средах образующийся стрептококковый токсин все время переходит в токсоид, и важным обстоятельством в этом отношении является не двукратный засев и фильтрация, а 21-дневное пребывание токсина в термостате. Поразительное постоянство в деле получения деятельных антивирусов, предназначенных для практического применения, показывает нам, что этот процесс накапливания токсоида из токсина не предъявляет даже больших запросов на характер питательного субстрата. Учитывая, что стрептококковый токсин продуцируется лишь в первые часы и дни роста культуры, совпадая по большой части с наличностью бактериального роста, мы по теоретическим основаниям изменили способ приготовления антивируса. Вместо трехнедельного культивирования мы ограничиваемся однократным двухдневным (до полного макроскопического роста) и превращения в токсоид мы достигаем не выдерживанием в термостате, а нагреванием в течение часа при 60° С. После прибавления 2% борной кислоты и фильтрации антивирус готов через 2—4 дня после засева. Отзывы медицинской и ветеринарной клиники о высокой ценности так приготовленного антивируса — стрепто- и стафилококкового — подтвердили правильность наших теоретических предпосылок и позволяют все практическое производство антивируса вести по этому упрощенному способу. Если присмотреться к нашим опытам, то можно убедиться, что самостоятельно превращающийся с течением времени в токсоид стрептококковый токсин долгое время еще может сохранять в небольшой степени свои аггресивные свойства, а поэтому нагревание культур при приготовлении антивируса надо признать не только целесообразным, но и необходимым. Для иллюстрации значения этого фактора напомним еще опыт № 21 на кошках, когда токсин со 100% смертностью немедленно после нагревания приобрел ярко выраженные иммунизаторные свойства токсоида (антивируса). Кроме того, нужно добавить, что в нескольких случаях применения свежего стафилококкового антивируса при поражении век один из нас (К а н д ы б а) получал необыкновенное обострение стафилококкового процесса. Так, у одного больного с банальным ульцерозным блефаритом через 10 часов после применения соответствующего авто-антивируса (без антисептических веществ) в виде примочек обнаружен был целый ряд небольших ячменей на веках, связанных с отеком век и припуханием околоушных лимфатических желез. Чем это объяснить, как не действием стафилококкового токсина? Особенно это станет ясным, если вспом-

нить работы Benedeck'a [6], так ярко описывающего местное токсическое действие стафилококкового токсина, обнаруживаемое клиникой.

Отметим также разницу в действии антивируса в опытах на кошках и жеребятах, благодаря применению в первом случая более или менее свежего антивируса, а во втором долго выдержанного препарата, предназначенного для клиники. В то время как на жеребятах отмечено постоянство иммунизирующего действия антивируса, на кошках мы этого явления не имеем.

Факт тождества действующего начала стрептококкового антивируса с стрептококковым токсоидом виден не только из превращения токсина в иммунизирующий токсоид, но также из поразительного совпадения иммунизаторной значимости токсоида и антивируса во всех наших опытах. Кроме того, вопрос о тождестве токсоида и антивируса можно решить диалектическим путем, именно, прежде чем в антивирусе искать новое загадочное тело, не то характера антитела, не то антигена, необходимо доказать, что в стрептококковом антивирусе не находится хорошо понятное нам тело антигенного ряда — токсоид стрептококкового токсина. С другой стороны, если скептически отнестись к нашим данным, характеризующим стрептококковый токсин, то нам нечем объяснить иммунизирующее действие гретого токсина. Таким агентом может быть только теоретически хорошо знакомый нам стрептококковый токсоид.

* * *

Нам казалось интересным испробовать местно-иммунизирующие свойства стрептококкового токсоида на животных, мало чувствительных к стрептококку. В качестве таковых мы воспользовались морскими свинками. Опыты велись с вирулентным для кошек и кроликов штаммом мытного стрептококка № 500 и преследовали лишь цель выяснить, какой получится результат местной иммунизации при применении тех же самых *test*'ов.

Вирулентность этого штамма для морских свинок после многочисленных опытов оказалась в пределах той величины, которую дали для мытного стрептококка Brocq — Roussen, Forgeot и Urbain [7]: подкожная аппликация 2,6 — 3,0 куб. см суточной сывороточно-бульонной культуры не всегда вызывала смерть морской свинки весом в 500 г, но зато постоянно обусловливала развитие обширных инфильтратов, абсцессов с некрозами и больших язв, не заживавших неделями. При интраперитонеальной инъекции свинки, весом в среднем в 500 г переносили 0,5 — 1,0 куб. см и гибли от 2,0 куб. см суточной культуры.

Всего нами поставлено на свинках 5 опытов.

В опыте № 17 повязками по Безредка были обработаны:

4 свинки — неактивным свежим токсином серии № XIV,
4 свинки — тем же токсином, прогретым один час при 60°C,
2 свинки — сывороточным бульоном, 4 свинки без повязок взяты в качестве контроля.

Все свинки, равномерно распределенные по этим группам сообразно с весом, колебавшимся от 490 до 575 г, на следующий день после местных манипуляций были привиты под кожу обработанных участков по 3,0 куб. см суточной сывороточно-бульонной культуры стрептококка № 500.

Опыт при учете через 17 дней дал следующие результаты:

I. *Контрольная группа* — 1 смерть (490 г), 1 гноящаяся язва (580 г) и 2 совершенно закончившихся уже процесса после абсцессов с волошский орех (555 — 570 г).

II. *Токсинная группа* — 2 смерти (515 и 570 г) и 2 больших гноящихся язвы (510 и 550 г) после абсцессов с волошский орех.

III. *Токсоидная группа* — у всех 4-х совершенно закончившийся уже процесс после абсцессов величиной с горошину.

IV. *Сывороточно-бульонная группа* — одна смерть (575 г) и 1 закончившийся уже маленький абсцесс.

По нашим условным обозначениям опыт формулируется следующим образом:

Контроль из 4	+	—	0 =
Токсин из 4	1.	3.	
Токсоид из4	2.	2.	
Сывор. бул. из 2	1.	1.	

На этом опыте отчетливо видно: 1) иммунизирующее действие стрептококкового токсоида при местной аппликации выразилось не только отсутствием летального исхода у соответствующих свинок, но и резким смягчением воспалительных явлений у них; 2) аггрессивное действие стрептококкового токсина нашло свое отражение в увеличении смертности в 2 раза сравнительно с контролями и кроме того в отягощении течения местного воспалительного процесса и 3) иммунизирующее влияние сывороточного бульона не проявилось, несмотря на сравнительно малый *Contagions-index*. На этот опыт мы уже ссылались в главе о стрептококковом токсине.

Местное иммунизирующее действие стрептококкового токсоида было нами ясно обнаружено еще в следующем опыте № 19. В опыт вошли 2 группы свинок, обработанных повязками по Безредка, по 3 экземпляра в каждую: 1) обработанные токсином месячной давности (серия № VI, в свежем виде очень активная, см. выше), 2) тем же токсином, прогретым в течение часа при 60°С и 3) контрольные. Через 24 часа все свинки были привиты под кожу 2,0 куб. см с сывороточно-бульонной культурой стрептококка № 500. После месячного наблюдения выяснилось, что в то время, как контрольные свинки — все большого веса (616, 670 и 680 г) — дали образование инфильтратов и абсцессов величиной с куриное яйцо с последующими язвами, у свинок, обработанных токсоидом и токсином, местные воспалительные явления не превысили величины лесного ореха, несмотря на меньший вес свинок (475, 505, 510, 507, 535 и 650 г). Аггрессивное действие токсина в этом

опыте не обнаружилось, так как токсин уже достаточно устарел и, потеряв свою активность, стал действовать, как токсоид.

Таким образом, мы в этом опыте имеем те же положительные результаты, которые получили на свинках Urbain, Костромки, Живаго и др. авторы, работая с антивирусом. Данные опыты, как и предыдущие, подводят аналогию между антивирусом Безредки и токсоидом.

Обращает на себя внимание, как первоначально ядовитый для свинок токсин серии № VI через месяц самостоятельно приобрел местно-иммунизирующие свойства, утратив токсические и аггрессивные, без искусственного превращения его в токсоид путем нагревания.

Местный характер иммунизации в этом опыте демонстрируется еще, между прочим, образованием у двух свинок вторичных инфильтратов величиной с волошский орех вне зоны наложения повязок с токсином у одной и с токсоидом у другой несколько дней спустя после образования первичного маленького инфильтрата.

Столь ясного действия токсоида и токсина нам не удалось обнаружить в опыте № 15 на 4-х свинках при одновременном впрыскивании под кожу смесей стрептококка (0,4 куб. см суточной культуры) и мытного устаревшего токсина, приготовленного на бульоне Parck'a с лошадиной кровью, и токсоидами — гретым при 60°С в течение 2-х часов токсином и кипяченым 30 минут на водяной бане токсином (по 5,0 куб. см). У контрольной и одной из токсоидных (60°С) свинок местная воспалительная реакция ограничилась образованием инфильтратов, а то время как у токсинной и второй токсоидной (100°С) наблюдались абсцессы и смерть. В нашей формулировке этот опыт выражается так:

Контроль: 0. Токсин: + (через 8 дн.). Токсоид (60°С): 0. Токсоид (100°С): + (через 9 дн.).

Аналогично этому опыту, совершенно отрицательные результаты были нами получены в опыте № 16 на 4-х свинках при подкожном введении культуры через 3 часа после местных манипуляций, состоявших в подкожном введении неактивного токсина, токсоида, полученого нагреванием токсина при 60°С в течение 2-х часов и токсоида, полученного кипячением в течение 20 минут.

Вопрос, зависит ли негативный результат этих двух опытов от резко измененных условий постановки эксперимента или же здесь имело значение разрушающее действие продолжительного нагревания или применение неактивных токсинов, для нас остается не решенным. Во всяком случае при окончательном учете результатов всех наших опытов эти два опыта на свинках могут быть не приняты во внимание.

Наконец, в опыте № 20 на молодых свинках мы получили также совершенно отрицательный результат, применив для местной иммунизации повязками по Безредка неактивный токсин серии № 10 и приготовленный из него токсоид. Ни по конечному исходу опыта, ни по величине воспалительной реакции нельзя было кон-

статировать разницы между различными группами свинок. В нашей формулировке этот опыт имеет следующий вид:

Контроль	из 5	+2—3
Токсоид	„ 5	+3—2
Токсин	„ 5	+2—3
Сыв. бул.	„ 2	+1—1

Причину такого неожиданного исхода опыта мы склонны видеть в применении неактивного негодного токсина, а также в случайно создавшемся большом *Contagionsindex'e*, благодаря введению в опыт свинок весом на 200 г меньше, чем в опытах №№ 17 и 19. Кроме того, свинки заражались 3,0 куб. см суточной культуры, как в опыте № 17.

Таким образом, мы считаем в общем, что и на свинках нам удалось получить те же явления местного иммунитета, которые так выпукло обрисовались в опытах на кошках и жеребятах.

С тем же штаммом мытного стрептококка № 500 мы поставили несколько опытов местной иммунизации на кроликах. Эти опыты дали настолько неутешительный результат в смысле выявления эффекта местной иммунизации, что мы сразу же отказались от намерения работать со столь неблагоприятным объектом в этом направлении, как кролик. Причина, по нашему мнению, заключается в том, что кролик, так же как и мышь, совершенно иначе относится к заражению стрептококком, чем кошка, лошадь, морская свинка и человек: кролики склонны быстро, от сравнительно небольшой дозы стрептококка (мытный стрептококк), давать сепсис при слабо выраженной местной воспалительной реакции.

* * *

Подводя итоги всех наших опытов, поставленных на жеребятах, кошках и морских свинках, мы можем вывести следующее заключение:

I. Местный иммунитет к стрептококку, как и общий, связан определенными границами.

II. Для выявления его путем эксперимента требуются поэтому оптимально подходящие — с чисто количественной стороны — условия постановки опыта.

III. Феномен местного иммунитета к стрептококку обрисовался в наших опытах весьма резко.

IV. Местная иммунизация (на кошках и жеребятах) дает возможность безнаказанно вводить в организм большие количества живых стрептококков.

V. Главным действующим началом Безредковского стрептококкового антивируса является токсоид стрептококкового токсина.

VI. Стрептококковый токсоид обладает ясно выраженным специфическим местно-иммунизирующим действием.

VII. Протеины также обладают, сравнительно в значительной степени, свойством повышать местную резистентность тканей

к стрептококку, значительно уступая, однако, в этом отношении специфическому токсоиду.

VIII. Свежий стрептококковый токсин обладает способностью аггравировать течение стрептококкового инфекционного процесса.

IX. В виду этого, антивирус по Безредка необходимо подвергать при приготовлении нагреванию при 60°С в течение 30—60 минут.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Kruif et Bollmann. Journ. Inf. Dis. 21, 588—589 1917. 2. И. Я. Садовский. Annal. de l'Inst. Pasteur. № 8,1926. 3. Он же. Comp. Rend. Soc. Biol. T. 95., p. 1422. 4. Он же. C. R. Soc. Biol. T. 97, p. 1452. 5. Он же. Микробиол. Журнал. T. VI. 1928. Benedek. Zeitschrift f. Immunit. 7. Brocq—Roussen, Forgeot et Urbain. Ann. de l'Inst. Pasteur № 7. 1924.

Из Гос. Ин-та Эксперимент. Ветеринарии.

Преципитирующие свойства и физические особенности различных фракций эйглобулинов преципитирующей сибиреязвенной сыворотки.[1]

Н. Н. Левитов

Реакция преципитации в применении ее для диагностики сибирской язвы по методу Ascoli приобрела в Германии и в СССР широкое применение. Нам в достаточной мере неизвестно, насколько удачно применение этой реакции в Германии. Отдельные сообщения, правда, говорят, что результаты удовлетворительны (Standfuss). Несколько иначе дело обстоит в СССР. Ряд научных и практических работников заявлял о том, что результаты применения этой реакции не всегда удовлетворительны (Левитов, Подкопаев). В виду этого мною предложен метод устранения неспецифических реакций, разработанный на основании устойчивости глобулинов в коллоидальных растворах. На этой же базе различной устойчивости белков я попытался частично объяснить явление неспецифических реакций Ascoli. Объяснение далеко неполное, но оно дало мне возможность практически реализовать мои наблюдения. Путем изолирования определенных групп глобулинов, придания им определенной устойчивости, я получал пригодный компонент из преципитирующей сыворотки, дававшей массу неспецифических реакций, благодаря неустойчивости ее белков.

К мысли о значении устойчивости глобулинов для реакции Ascoli и возможности на этой базе построить устранение неспецифических показаний я пришел через ряд этапов, вкратце изложенных ниже.

Работая над изолированием белков различных сывороток, я пришел к выводу, что устойчивость глобулинов иммун-сывороток зависит от метода гипериммунизации.

В моих работах отмечены факты, что: 1) Иммун-сыворотки, получаемые методом подкожной гипериммунизации, дают глобулины устойчивые против воздействия дестиллированной водой в отношении 1 : 10. 2) Сыворотки, получаемые методом интравенозной гипериммунизации, дают глобулины малоустойчивые против воздействия дестиллированной водой в том же отношении. 3) Давность и сила интравенозной гипериммунизации увеличивает способность выпадения глобулинов от дестиллированной воды. 4) Давность и сила подкожной и кожно-подкожной

[1] Доклад на курсах усовершенств. врачей-бактериологов при Государств. Ин-те Эксперимент. Ветер. 8 Апр. 1929 г.

гипериммунизации, вероятно, не имели большого значения для увеличения способности глобулинов выпадать от воздействия дестиллированной водой. 5) Глобулины свеже-полученных сывороток менее устойчивы, чем глобулины сывороток, некоторое время хранившихся. 6) Количество глобулинов, выпадающих при разведении дестиллированной водой, не соответствует действительному наличию глобулинов в сыворотке. 7) Не выпавшие глобулины осаждаются полунасыщением сернокислым аммонием 8) Повидимому, глобулины, выпадающие от воздействия дестиллированной водой, целиком или частью относятся к эйглобулинам. 9) Инактивация депрессирует способность выпадения глобулинов от разведения дестиллированной водой. 10) Нагревание при 60° С в течение 1 часа почти уничтожает способность выпадения глобулинов от разведения дестиллированной водой. 11) Существует, повидимому, оптимум температуры, благоприятствующей выпадению глобулинов при разведении дестиллированной водой. 12) Следы неустойчивости глобулинов в сыворотках лошадей, прежде гипериммунизированных интравенозно, а затем переведенных на подкожную гипериммунизацию, хранятся весьма продолжительное время.

Указанные наблюдения мною сначала были проведены на сыворотках 16 гипериммунных животных Моск. Вет. Бакт. Ин-та и 20 относительно нормальных животных и затем подтверждены наблюдениями над сыворотками около 150 гипериммунных лошадей и большого количества негипериммунизированных животных. Сюда вошли сыворотки: противосибиреязвенная, 3) противоражистая, 3) противосептицемическая, 4) преципитирующая сибиреязвенная, 5) противостолбнячная, 6) антистрептококковая, 7) антистафилококковая, 6) антименингококковая, 9) противодифтерийная, 10) противоскарлатинозная.

Особенно демонстративно указанные наблюдения подтверждались на преципитирующих сибиреязвенных сыворотках, с которыми мне пришлось больше всего работать.

В преципитирующих сибиреязвенных сыворотках увеличивающаяся неустойчивость довольно тесно связана с увеличивающейся неспецифичностью показаний.

Все эти факты заставили думать: 1) о тех причинах, которые ведут к увеличению в крови количества неустойчивых белков, 2) к какой фракции принадлежат эти белки, 3) какими химическими и 4) физическими свойствами они обладают, а также 5) как в них выражены различные серологические свойства.

В литературе по реакции Ascoli эти вопросы мало затронуты, поэтому необходимо постараться пролить свет на свойства белков сывороток и причины изменения этих свойств, как от методов гипериммунизаций, так и от различных факторов, связанных с обработкой этих сывороток.

В литературе имеются указания на ряд патологических процессов, сопровождающихся изменчивостью стабильности плазмы крови.

Мои наблюдения о зависимости устойчивости глобулинов иммунных сывороток от методов гипериммунизации и объяснения этих явлений, как следствия нарушения нормального состояния кровеносной и кроветворной системы, не находятся в противоречии с наблюдениями других авторов, сделанных по другим поводам.

К какой фракции можно отнести эти малоустойчивые белки и какие их особенности? Разделяя белки сывороток на альбумины и глобулины, а последние на псевдоглобулины и эйглобулины, пытаются обусловить их разделение на основе или химической, или физической.

Работы Hammarsten'a дали возможность классификации белков плазмы и сыворотки крови по их отношению к степени насыщения их нейтральными солями легких металлов. Эта классификация основана на факте, что определенные фракции белков, обладающие определенными свойствами, могут быть осаждены только соответственными количествами нейтральных солей легких металлов.

Пытались было установить различие между эйглобулинами и псевдоглобулинами на основании их отношения к разведению сывороток водой: первые—нерастворимы, а вторые растворимы. Но оказалось, что продолжительным электродиализом осаждаются все глобулины. Псевдоглобулины требуют слишком малого количества солей для их растворения (Pauli, Adolf).

Описанные особенности белков сыворотки крови дают основание полагать, что эйглобулины и псевдоглобулины различны и по своему химическому составу.

Не соглашаясь с Hardy, который на основании электрической инактивности белков сыворотки считал их за один белок, Sörensen полагает, что комплексы протеинов состоят из большего или меньшего комплекса полипептидов, тесно

связанных вместе вторичными связями или изменчивыми образованиями солей, без действительного химического единства между комплексами (Pickering).

Pickering смотрит на плазму крови в животном организме, как на единый комплекс, а не смешение разъединенных субстанций, до того момента, пока плазма крови не подвергнется влиянию внешних факторов.

Сыворотка же крови является остатком крови значительно расстроенным, и стабилизирующие силы крови в сыворотке резко ослаблены. И это ослабление больше всего сказывается на устойчивости левых групп белков (если за правую группу принять альбумины) [1].

В отношении белков преципитирующих сибиреязвенных сывороток, я в своей статье „Альбумины и глобулины преципитирующей сиб.-язв. с-ки", указал на преимущественное значение глобулинов и, в частности, эйглобулинов в реакции преципитации. Также ряд авторов указывает на то, что преципитины связаны с эйглобулинами.

В своей работе [1]) я высказал предположение о том, что „глобулины, в частности эйглобулины иммун-сывороток, не являются с физико-химической стороны однородной группой". К этому мнению я пришел теоретически, исходя из того факта, что при гипериммунизации интравенозно происходит постепенное полевение групп белков и создание новых, более левых групп, которых в норме не было. Высказавши это теоретическое предположение, я решил подтвердить его экспериментально, ожидая, что таким путем удастся отыскать группы эйглобулинов, максимально обладающие преципитирующими свойствами с одной стороны, а с другой отбросить белковый балласт с минимальной преципитирующей силой.

Для ориентировочного опыта, с целью доказать наличие различных групп эйглобулинов, осаждаемых разведением дестиллированной водой 1 : 10, я взял 70,0 куб. см преципитирующей сыворотки и стал прибавлять дестиллированной воды до первого выраженного помутнения, а затем и флокуляции. Прозрачная жидкость мною еще фильтровалась, чтобы удалить остаток хлопьев белков малоустойчивой группы, и к прозрачной жидкости вновь прибавлялась дестиллированная вода до начала помутнения и флокуляции. Таким образом, я получил для начала 5 групп эйглобулинов. Количество осадков, объемно, было различно, начало флокуляции тоже было различно. Это дало мне надежду, что мои теоретические предпосылки правильны и что одновременно с различными физическими свойствами групп эйглобулинов они будут иметь и различные преципитирующие свойства. В виду крайней загруженности производственной работой (исследование до 6.000 проб кож на на сибирскую язву в день), я решил проверить сначала меньшее количество групп эйглобулинов на их физические и серологические особенности, из которых я выбрал только отношение к разведению дестиллированной водой и преципитирующие свойства.

---

[1]) Здесь мною употребляется подразделение на правые и левые группы, исходя из того, что альбумины в эмбрионе являются самой ранней группой белков плазмы крови, а также наиболее диспергированной группой. Идя справа налево, мы имеем возникновение глобулинов и прежде всего псевдоглобулинов, затем эйглобулинов, причем, очевидно, каждая из этих групп имеет правые и левые фракции, обладающие своими особенностями.

Вопрос о физических особенностях и преципитирующих свойствах отдельных фракций эйглобулинов преципитирующей сибиреязвенной сыворотки в литературе, насколько известно мне, не затрагивался. Неизвестно ни количество этих фракций в сыворотке, ни процентное отношение их к другим белкам сыворотки.

Для начала 26/II — 29 г. я взял одну из преципитирующих сибире-язвенных сывороток в количестве 100,0 и прибавил 200,0 дест. воды, создавши таким образом разведение в 3 раза. По осаждении хлопьев белка жидкость была декантирована и профильтрована через бумажный фильтр до прозрачности, а осадок 1 отцентрофугирован и высушен в термостате при 33° С.

К фильтрату было добавлено дестиллированной воды из расчета 1 : 10 к объему взятой сыворотки. По осаждении жидкость и осадок также обработаны, как и в первом случае.

Осадок I весил 0,520 г, а осадок II весил 0,170 г, т.-е. на 100,0 куб. см сыворотки было 0,52 осадка I и около 0,2 осадка II (необходимо принять в расчет оставшийся на фильтре фильтрат от осадка I). Таким образом, если принять, что дестиллированная вода в отношении 1:10 осаждает только эйглобулины и притом целиком, то их содержание в данной сыворотке равнялось около 0,7 г на 100,0 куб. см.

3/III — 29 г. полученные глобулины (желтоватого цвета) были растворены в отношении 1:50 в 3% растворе химически чистого *NaCl* при частом взбалтывании и при T° 33° С. Глобулины I дали мутную, трудно просветляющуюся фильтрованием жидкость, а глобулины II дали жидкость более прозрачную, быстро профильтровавшуюся.

Следующей задачей было определить устойчивость белков каждой группы, а также преципитирующую силу белков каждой группы. Устойчивость глобулинов определялась разведением дестиллированной водой в отношении 1:10. Как видно из таблицы № 1, глобулины I в 3% растворе *NaCl* при разведении дестиллированной водой дали более сильное помутнение, чем глобулины II, тоже и с флокуляцией каждой из этих групп. Но здесь разница была не так резка, как при сравнении преципитирующей силы каждой из этих групп. Стандарт-антиген, приготовленный по моей методике весового количества, в разведении 1:5000, дал с каждой группой глобулинов совершенно различные результаты. Если глобулины I дали + через 5 минут, то глобулины II дали + только через 45 минут.

Так как отношение 1:50 создавало значительную концентрацию эйглобулинов, я прибег в разведению раствора глобулинов (№ 1 и № 2 по таблице № 1) дестиллированной водой. Таким образом я получил разведение глобулинов 1:100 на 1,5% растворе *NaCl*. На основании моей работы, я должен был ожидать, что при уменьшенном количестве белков и концентрации соли, я получу большую стабильность белков с увеличением, в некоторых случаях их преципитирующей силы. Таблица № 1 в №№ 3 и 4 подтверждает ожидания. Здесь также резко заметна разница физических свойств и особенно преципитирующей силы двух групп эйглобулинов.

Но так как при исследовании кож, особенно соленых, по Ascoli, ввиду возможных задержек, а иногда просто всплывания преципитирующего компонента, обычно редко можно работать с растворами глобулинов, содержащими 1,5% *NaCl*, я испробовал, как отзовется на каждой из двух групп увеличение количества *NaCl* до 3,5%, т.-е. до того процента, при котором довольно часто приходится работать. Из предыдущей моей работы было видно, что увеличение количества соли в растворах глобулинов преципитирующей сибиреязвенной сыворотки ведет к увеличению стабильности и уменьшению преципитирующей силы. Из таблицы № 1 в №№ 5 и 6 мы видим, что глобулины I и II в отношении 1:100 на 3,5% растворе *NaCl* дали резкое увеличение стабильности и снижение преципитирующей силы, причем разница между особенностями обеих групп была особенно выпукла: устойчивость эйглобулинов I оказалась в два раза меньшей устойчивости эйглобулинов II, но зато преципитирующая сила I группы была неизмеримо выше, чем у II группы. Как в этом опыте, так и следующем, дестиллированная вода бралась $p_H = 6{,}8$ по Michaelis'y колориметрически, а диаметр пробирок, выщелоченных, всегда был 1,65—1,70 см.

Следующий опыт был поставлен 6/III—29 г., причем было принято во внимание, что после осаждения глобулинов разведением дестиллированной водой в 3 раза в фильтрате оставались белки малой преципитирующей силы и резко отличные от осажденных глобулинов по своим физическим свойствам. Поэтому главное внимание было обращено на группу I, которую я решил расчленить на две группы, применивши осаждение разведением сначала в два раза, затем в три раза по отношению к первоначальному объему сыворотки.

Табл.

№№ по порядку	Наименование препаратов	% NaCl	Степень помутнения моментально
1	Глобулины I (осажд. из 100,0 сыворотки прибавлением 200,0 дест. воды)	3%	#
2	Глобулины II (из фильтрата I осаждены прибавлением 700,0 д. воды)	3%	+++
3	№ 1 разведен пополам дест. водой	1,5%	+++
4	№ 2 „ то же	1,5%	+++
5	№ 3 „ но с содержанием NaCl	3,5%	++
6	№ 4 „ „ „ „	3,5%	+

Опыт шел так: 6/III взято 225,0 преципитирующей сибиреязвенной сыворотки (другой, к сожалению, серии), прибавлено 225,0 дест. воды. Появилась сразу сильная муть и через 8 минут — флокуляция. В этот же день осадок I отцентрофугирован, а жидкость профильтрована до прозрачности. К 400,0 фильтрата прибавлено 200,0 дестиллир. воды. Опять появилась сильная муть, а через 3 минуты — флокуляция. 7/III. Осадок II отцентрофугирован, жидкость профильтрована до прозрачности. Получено 550,0 фильтрата, к которому прибавлено 350,0 дест. воды. 8/III. Осадок III отцентрофугирован.

Все три осадка немедленно после центрофугирования ставились в термостат, высушивались, взвешивались и держались в пергаментных пакетиках. По весу получено: осадка I — 0,310 г, т.-е. 0,137 на 100 куб. см сыворотки, осадка II — 0,898, т.-е. 0,4 и осадка III — 0,987, т.-е. почти 0,44 на 100. Общий вес I и II групп равнялся, следовательно, 0,537 на 100,0 куб. см сыворотки, т. е. почти весу белков группы I в таблице 1. Процент же белков группы II больше процента белков группы II в табл. 1. Таким образом мы имеем эйглобулинов 0,977 на 100,0 сыворотки, а если принять во внимание утери на фильтрах, то не менее 1,0 г на 100,0 куб. см сыворотки т.-е. на 0,3 г больше, чем в опыте первом.

Дальнейший ход опыта сведен в таблицу № 2. Процент *NaCl* и разведения каждой группы эйглобулинов были те же, что и в предыдущем опыте, но антиген взят в разведении 1 : 3000. При растворении этих трех групп глобулинов наблюдалось то же, что и в предыдущем опыте, т.-е. группы менее стабильные труднее растворялись и труднее фильтровались, чем группы более стабильные.

Из таблицы № 2 мы видим, что группы I и II, полученные путем разведения сыворотки тем же количеством дестиллированной воды, что и группа I в таблице № 1, разнятся между собою как по физическим свойствам, так и способности преципитировать. Группа I немного уступает в стабильности группе II при разведении 1 : 50 в 3% *NaCl*, но группа I значительно активнее преципитирует, чем группа II. Группа III получена осаждением не 1 : 60, как в таблице № 1, а почти 1 : 20. Поэтому возможно, что абсолютное и процентное увеличение веса ее белков получилось за счет осаждения добавочных групп белков, не осажденных в опыте

Табл. 1.

Начало флокуляции	Начало появления просвета сверху	Осаждение хлопьев		Сила преципитации через минут				
		На ½ пробирки	Полное	+ —	+	+ +	+ + +	#
ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.
2	4	15	20	4	5	8	12	17
3	5	20	30	35	45	1 25	—	—
2	8	Не установлено		1,5	2	4	7	9
3	10			8	15	45	—	—
50	1 10	1 30	1 40	7	10	20	40	—
1 50		3		1 10	—	—	—	—

сведенном в таблицу № 1. Эта группа еще более, чем в предыдущем опыте разнится от первых двух групп. Мы видим резкое увеличение ее стабильности и уменьшение преципитирующих свойств. Несмотря на более концентрированный антиген, мы не получили два креста: преципитирующая сила иссякла, давши через 30 минут один крест.

Тоже самое мы имеем при разведении всех трех предыдущих компонентов дестиллированной водой пополам. Здесь мы получили при несколько увеличенной стабильности усиление, правда незначительное, преципитирующей силы в первых двух группах.

Особенно резко выразилась разница между группами при сравнении их в условии растворения на 3,5% *NaCl* в разведении 1:100. Большая преципитирующая сила группы I оказалась особенно подчеркнутой перед группой II, несмотря на почти одинаковую их стабильность. Группа III оказалась неспособной преципитировать в этих условиях.

Полученные мною данные позволили мне использовать мои наблюдения для целей практических. При исследовании кож на сибирскую язву по Ascoli я давно уже отказался от работы с цельными сыворотками, как от метода, не дающего хотя бы приблизительно сносных результатов. Поэтому, найдя разность физических особенностей и преципитирующих свойств эйглобулинов преципитирующих сибиреязвенных сывороток, я последнее время брал от сывороток только определенные, нужные мне группы эйглобулинов, отбрасывая остальные как излишний балласт, ве-

№№ по порядку	Наименование препаратов	% NaCl	Степень помутнения моментально
1	Глобулины I (осаждены из 225,0 сыворотки прибавлением 225,0 дест. воды)	3%	##
2	Глобулины II (осаждены из 400,0 фильтрата от № 1 прибавлением 200,0 дест. воды)	3%	#
3	Глобулины III (осаждены из 550,0 фильтрата от № 2 прибавлением 3500,0 дест. воды)	3%	++
4	№ 1 пополам с дестиллир. водой	1,5%	+++
5	№ 2 „ „ „ „	1,5%	+++
6	№ 3 „ „ „ „	1,5%	++
7	№ 1 „ „ „ „	3,5%	++
8	№ 2 „ „ „ „	3,5%	+++
9	№ 3 „ „ „ „	3,5%	+

дущий, во-первых, к депрессии, а во-вторых, к неспецифическим реакциям. Тот же принцип был мною взят и при получении „нормального контроля". Для этого из некоторых сывороток, не сибиреязвенных, но полученных интравенозным путем, брались только определенные группы белков, идентичные группам преципитирующей сыворотки, в известных весовых отношениях, доведенные до определенной устойчивости и т. д. (последние вопросы будут освещены в отдельном сообщении).

Подводя итоги моих наблюдений по затронутому вопросу, я пока могу притти к выводам что:

1) Эйглобулины преципитирующих сибиреязвенных сывороток, осаждаемые дестиллированной водой в отношении 1 : 10 — 1 : 20, не представляют фракции белков однообразных по своим физическим и преципитирующим свойствам.

2) Группы левых эйглобулинов, наименее устойчивые, обладают наиболее выраженными преципитирующими свойствами.

3) Полного параллелизма между устойчивостью эйглобулинов преципитирующих сибиреязвенных сывороток, при осаждении их дестиллированной водой, и их специфической преципитирующей силой не имеется.

4) Группы эйглобулинов, (опыты), осажденные в данных опытах дестиллированной водой в отношении 1 : 3, содержат максимум преципитирующих свойств.

5) Белки, осаждаемые разведением 1 : 10 — 1 : 20, после удаления групп, упомянутых в п. 4, обладают большей устойчивостью и ничтожной преципитирующей силой.

Табл. 2.

Начало флокуляции	Начало появления просвета сверху	Осаждение хлопьев		Сила преципитации через минут				
		На 1/2 пробирки	Полное	+ —	+	+ +	+ + +	#
ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.	ч. м.
2	7	18	25	0,25	0,5	2	3	5
2	10	22	28	1	3	5	10	15
50	1	1 25	—	15	30	—	—	—
2	14	20	27	0,5	1	2	2,5	4
2	20	30	35	0,5	1	3,5	8	12
55	1 5	1 40	—	18	40	—	—	—
7	25	30	45	1,5	2	3	4	7
9	25	30	45	2	10	20	—	—
1 40				—	—	—	—	—

6) Чем меньше концентрации различных фракций эйглобулинов в растворах и чем больше в них процентов *NaCl*, тем резче разница в устойчивости и преципитирующих свойствах между различными фракциями эйглобулинов.

7) Вероятно, имеется большое количество различных фракций эйглобулинов, обладающих различными свойствами.

8) Выделяя определенные группы эйглобулинов из преципитирующих сибиреязвенных сывороток, мы освобождаемся от излишних групп белков, не обладающих нужными для нас свойствами и вредящих правильности постановки реакции преципитации.

9) Комбинируя белковую и солевую концентрации, мы можем получать наилучший компонент для реакции преципитации в смысле активности и минимума неспецифических показаний.

Начатое мною изучение свойств эйглобулинов преципитирующих сибиреязвенных сывороток я постараюсь продолжить и уточнить. Указанные здесь данные получены при исследовании сывороток карболизированных. Поэтому я не могу сказать, как будут себя вести сыворотки некарболизированные и как на них отразится различное разведение дестиллированной водой в смысле выделения различных фракций эйглобулинов.

Кроме того, в моем распоряжении в данный момент не было достаточно сывороток, чтобы начать сравнительный опыт, поэтому я воздержался от выводов, связанных с параллелизмом в устойчивости, преципитирующей силе, количестве и процентном соотношении белков преципитирующих сибиреязвенных сывороток.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Левитов. — „Неспецифич. реакции при исследов. кож на сиб. язву по Ascoli и их устранение, в свете устойчивости глобулинов в коллоид. растворах". Доклад в Моск. Вет. Бакт. Ин-те, Ноябрь, 1928, и на совещании спец. по р. Ascoli при Вет. Упр. НКЗ, Декабрь, 1928. Практ. Вет. и Конев. 2. Pickering.—The blood plasma in health and disease. 1928. 3. Левитов.—„Зависимость устойчивости глобулинов иммун. сывор. от методов гипериммунизации". Доклад на Научн. Тех. Сов. Моск. Вет. Бакт. Ин-та 16 Июня 1928. Напеч. „Рефер. моих работ". Москва Сент. 1928. 4. Левитов. — „Альбумины и глобулины сиб. язв. преципит. сывор." Февр. 1928. 5. Dochez. — Journ. exper. Med. 16, 693, 1912. 6) Addis. — Edinb. Med. Journ. 5, 38. 1910. 7) Lee and White. — Amer. Journ. Med. Sc. 145. 495, 1913. 8) Van Allen. — Blood coagulation and malignant tumorus. 1927. 9) Pauli; Klin. Wochenschr. 3, 1, 1924. 10) Adolf. — Klin. Wochenschr. 3, 1214, 1924. 11. Chick. — Biochem. Journ. 8, 404, 1914. 12. Sörensen. — Journ. Chem. Soc. Dec. 2995, 3009, 1926.

Из Бактериологич. Института имени Пастера.

Организм, как гетерогенная система.

Н. Н. Андреев.

Как известно, за последние годы физическая химия начинает играть все большую и большую роль при изучении биологических процессов.

Это объясняется сделанными наблюдениями, что в основе механизма этих процессов всегда лежат физикохимические явления.

Большим недостатком при подобных исследованиях является их разрозненность, каждый процесс рассматривается сам по себе без связи с другими. Общей точки зрения не имеется и потому для многих процессов найти соответствующие физикохимические явления оказывается не так легко. Сюда относятся, например, нервная деятельность, иммунитет и т. д.

По моему, общая точка зрения, характеризующая все физико-химические явления, имеющие место в организме, состоит в том, что организм есть гетерогенная система с характерными для последних процессами.

Что организм — гетерогенная система, положение само по себе очевидное и не требует доказательств. Он состоит из несмешивающихся между собою веществ, которые отделены поверхностями раздела, а это и есть гетерогенная система.

Насколько велико значение гетерогенности организма для жизни, видно из того, что все биологические процессы, которые до сих пор рассматривались с физико-химической точки зрения, объясняются такими явлениями, которые присущи гетерогенным системам.

На самом деле, выделение мочи происходит, благодаря *ультрафильтрации*, вследствие высокого осмотического давления в клетках. Тем же *осмотическим* давлением и *проницаемостью* клеточных оболочек объясняется образование лимфы, экссудатов, транссудатов и проч. Отеки появляются, благодаря *набуханию* тканей при накоплении кислот. В основе процессов ассимиляции и диссимиляции лежат явления *катализа*. Неравномерное распределение различных веществ в организмах зависит во многих случаях от *адсорбции*. Направление движения жидкостей связано с наличием электрического заряда на оболочках клеток — так назы-

ваемого *мембранного потенциала*. Формы и структуры организмов объясняются выделением веществ при реакциях, протекающих в гетерогенных системах; примерами служат так называемые искусственные организмы, *кольца* Лизеганга. Ультрафильтрация, осмоз, набухание, катализ, адсорбция, мембранный потенциал и т. п. все это, как известно, процессы, характерные для гетерогенных систем, а отсюда следует, что понятием гетерогенности организма можно пользоваться, как общей точкой зрения для изучения таких биологических явлений, механизм которых до сих пор остается не рассмотренными с физико-химической стороны, таковы указанные иммунитет и нервная деятельность.

В таком же направлении можно итти и дальше. Если организм — гетерогенная система и с этим связан характер всех процессов, протекающих в нем, то естественно возникает мысль, что в гетерогенности надо искать обоснования и более широких биологических явлений, какова целесообразность, наследственность, эволюция, а может быть и зарождение жизни на земле. Мне не кажется невероятным, что при обстоятельном изучении гетерогенных систем (а они изучены вообще очень мало), и особенно белковых, можно найти путь к изучению и этих явлений с физико-химической точки зрения.

Из Эпидем. Отд. Киевск. Сан. Бактериолог. Ин-та.

Опыт дифференциации микробов *coli-typhus*—группы по признакам их отношения к солям органических кислот.

В. Г. Дроботько и С. И. Городинской.

В связи с учением об изменчивости бактерий, получившем в последнее время широкое распространение и признание среди микробиологов, многие из кардинальных признаков, характеризующих представителей отдельных видов бактерий, которые (признаки) казались прежде более или менее константными и незыблемыми, стали утрачивать свое значение. В учении об изменчивости бактерий оказались непощаженными ни биохимические, ни серологические признаки. С этим фактом связана нередко чрезвычайная трудность дифференциации отдельных представителей от ряда близких к ним видов. Если это в известной мере касается видов сравнительно хорошо уже изученных, напр., палочки брюшного тифа, то в еще большей степени это касается такой большой группы бактерий, как паратифозные, вопросам классификации которых в настоящее время посвящается очень много работ.

Однако, несмотря на это, несмотря на многочисленные старания, не удалось внести вполне определенную ясность в группировку открытых до сих пор различных видов паратифозных бактерий. И Uhlenhuth [1]) в своем заключительном слове на II Съезде немецких микробиологов во Франкфурте на М. 1925 г., после ряда больших докладов и обширных прений на тему о паратифах, говорит по поводу разделения их на типы, что „мы стоим только в начале работ, выполнение которых еще потребует много труда и времени". Несомненно причина этому лежит в недостаточности прежней методики, какою пользовались в лабораториях для характеристики отдельных видов и типов бактерий. Не вдаваясь здесь в оценку прежних методов ни серологических, ни биохимических, мы позволяем себе думать, что поиски новой методики можно считать, сейчас своевременными.

Мы полагали, что такую методику следует искать в систематическом изучении биохимических свойств бактерий данной группы.

В настоящий момент мы поставили себе задачей систематически изучить отношение различных видов бактерий, главным образом кишечных, к различным органическим соединениям, еще мало

вошедшим в лабораторную практику, надеясь таким путем найти ряд новых отличительных признаков для взятых для изучения бактерий. Настоящую работу мы посвящаем *coli-typhus-paratyphus* — группе, надеясь в ближайшем будущем провести аналогичную работу и с другими кишечными микробами.

При изучении отношения микробов к различным органическим соединениям мы считали целесообразным поставить опыты культивирования микробов в такие условия, где бы состав среды был нам точно известен и каждый ингредиент ее мог быть легко и точно учтен. Такие условия можно было осуществить, только пользуясь синтетическими средами. Такие среды и были взяты для наших исследований.

Не останавливаясь подробно на литературе вопроса, мы сошлемся здесь только на те работы, которые имеют более близкое отношение к нашей теме.

В последние годы появился ряд работ, в которых изучалась способность различных бактерий ассимилировать азот различного происхождения.

И еще в 1903 г. Fischer [2]) сделал попытку разделить все бактерии по способностям их усваивать тот или иной азот на 7 групп, а именно: 1) паратрофы, 2) пептонобактерии, 3) аминобактерии, 4) аммонбактерии, 5) нитробактерии, 6) нитрит и нитратбактерии и 7) нитрогенбактерии.

Значительно позже (1919 г.) Kisch [3]) изучал способность различных кишечных штаммов усваивать азот из органических и неорганических соединений. Для этой цели им была синтезирована среда, в которой было обеспечено солевое питание бактерий (K_2HPO_4, $MgSO_4$, $NaCl$, $FeSO_4$ и $CaHPO_4$) и удовлетворена их потребность в углероде путем добавления 1% виноградного сахара. К этому основному раствору (*Stammlösung*) добавлялся тот или иной источник азота (нитраты, нитриты, аммиачные соли, аминокислоты) и на такой среде испытывался рост бактерий.

Оказалось, что не все перечисленные источники азота равноценны для азотного питания бактерий. Так, нитриты оказались почти совершенно непригодными для питания микробов, нитраты усваивались только небольшим числом видов (*B. parat. B.* и *B. Gärtneri*) и то чрезвычайно медленно; значительно лучшим источником азота оказались аммиачные соли и еще лучшим аминокислоты. При этом среди кишечной группы имелись виды, которые или совсем или лишь в ничтожной степени могли усваивать азот из перечисленных соединений. К таким видам относятся *B. typhi abd.*, *B. parat. A* и *B. dysenteriae Shiga*.

Те же вопросы в последнее время подвергались систематическому изучению Braun'ом [4 5 6]) и его сотрудниками, и велись преимущественно в направлении определения способности бактерий усваивать аммиак из аммиачных солей. Сперва на одном штамме *B. parat. B*, а затем на ряде других, преимущественно из группы кишечных бактерий, ими был испытан большой ряд комбинаций из солей органических и неорганических кислот для выращивания бактерий. В результате работ оказалось, что большинство видов кишечной группы способно ассимилировать аммиачный азот из различных аммиачных солей (NH_4Cl, $(NH_4)_2SO_4$ и т. п.). Лишь *B. typhi*, *B. parat. A* и *B. dysent. Shiga* не обладали этой способностью. Однако и аммиакассимилирующие виды не при всяких условиях могли проявлять эту свою способность. Они проявляли ее только при определенных источниках углевода. В то время как *B. typhi*, *B. parat. A* и *B. Shiga* ни при одном из испытанных источников С не ассимилировали азота из аммиачных солей. *B. parat. B* и др. виды ассимилировали его лишь при некоторых, при других же ассимиляция оказалась невозможной.

Так *B. parat. B* легко ассимилировал аммиачный азот, пользуясь, как источником С, молочной, или лимонной, или янтарной кислотой. Подобным образом вел себя *B. Gärtner*'а, *B. Voldagsen*, бац. мышиного тифа, а также *B. coli*. При испытании различных сахаров оказалось, что аммиак ассимилируется в присутствии только тех из них, которые данным видом разлагаются. То же выявилось из более ранних исследований Werdt'а и Kopatschek'а [7]) и из более поздних K. Pesch'а [8]) и H. Schmitt'а [9]).

Что касается аминокислот, которые для бактерий, как оказалось, могут служить одновременно и источником азота и источником углевода, то некоторые из них изучил Braun со своими сотрудниками. Ими были изучены следующие аминокислоты: *Glykokoll, d-Alanin, l-Leuzin,* аспарагиновая кисл., глютаминовая кисл., *l-Tyrosin, l-Tryptophan,* затем амино-уксусная кислота и амино-изобутил-уксусная кисл., *Oxiphenilalanin* и др.

Изучение показало, что для определенных видов бактерий одни из них являются одновременно источником и азота и углерода, другие — только азота.

Азот этих последних, что особенно отчетливо было показано Braun'ом в более поздней работе совместно с Lisch [10]) может усваиваться бактериями лишь в том случае, если к среде добавлен какой-либо другой источник углерода. Так, в этой последней работе, проведенной на трех штаммах, выделенных при колитах (*Colitisbazillen*), выявилось, что на минеральных средах, в которых единственным органическим веществом являлись или *Glykokoll*, или *Leuzin*, или *Tyrosin*, или *Tryptophan*, или мочевина — роста указанных штаммов не наблюдалось, однако, если к среде добавлялась молочная кислота (источник углерода), то рост наступал. Иными словами из перечисленных кислот бактерии могли усваивать азот, но не углерод, и для своего питания нуждались в иных источниках последнего, в данном случае в молочной кислоте.

Это касалось аммиакассимилирующих бактерий. Что же касается видов, необладающих этой способностью (*B. typh, B. parat. A, B. Shiga*), то только одна из перечисленных аминокислот оказалась пригодной для азотистого их питания, именно: *Tryptophan.*

Последний служил источником азота, а углерод бактерии должны были получить из других соединений (молочной кислоты — в опытах авторов).

Кратко изложенные работы чрезвычайно интересны в теоретическом отношении, но они представляют большой интерес и практический. На возможность использования полученных результатов для практических целей указывалось уже самими авторами (Braun и Cohn-Bronner [5]), Pesch [8]). И действительно если не ими самими, то другими исследователями мысли, высказанные в этих работах, использованы для практических целей. Так, Koser [11]), а затем Simmons [12]) построили свои синтетические среды для дифференциации *B. coli* от *B. lactis aërogenes.*

Главным образом практические цели, как уже говорилось, преследовали и мы в своей работе. Однако, работу мы повели в несколько ином направлении.

В то время как предыдущие авторы главное свое внимание фиксировали на азоте, мы поставили своей целью изучение отношения кишечной группы к источникам углерода, и преимущественно к тем, которые до настоящего времени мало изучены — именно: к солям органических кислот. Поэтому в своих опытах мы брали среду с определенным и постоянным источником азота, и меняли в среде источник углерода. Источником же азота у нас служил фосфорно-кислый аммоний—$(NH_4)_2HPO_4$. Мы остановились на этой соли, так как в опытах Kisch'a [3]) она среди ряда других аммиачных солей оказалась наиболее пригодной для азотистого питания микробов, т.-е. в присутствии этой соли аммиакассимилирующие микробы росли наиболее пышно.

Нами были испробованы как жидкие, так и твердые питательные среды, при чем выявилось, что на твердых питательных средах результаты выступают более четко и ясно, и притом быстрее, чем на жидких.

Поэтому, проведя несколько ориентировочных параллельных исследований и на жидких и на твердых средах, мы скоро отказались от первых и всю свою работу провели на твердых питательных средах.

Среды, аналогичные среде „Simmons'a, готовились следующим образом. Сперва в 1 литре воды растворялись след. соли:

$(NH_4)_2\ HPO_4$	— 1,0
K_2HPO_4	— 1,0
$MgSO_4$	— 0,2
$NaCl$	— 5,0

К раствору их добавлялся агар в количестве 20 грамм.

Предварительно агар измельчался ножницами на мелкие кусочки и наливался дестиллированной водой, несколько раз сменяемой, на одни сутки с целью удалить из агара по возможности все органические вещества. Такой промытый и затем отжатый для удаления излишков воды агар добавлялся к солевому раствору, расплавлялся на пламени горелки, фильтровался и разливался по 100 куб. см в сотки. В таком виде среда стерилизовалась в автоклаве $^1/_2$ часа при 2-х атмосферах.

Это был основной агар, к которому в момент употребления добавлялась необходимая (испытуемая) соль органической кислоты.

Из солей органических кислот заранее приготовлялись 10% растворы, разливались в колбы и стерилизовались в Koch'овском аппарате 3 дня по 30 минут.

На каждые 100 куб. см добавлялось по 10 куб. см раствора органической кислоты. Таким образом питательные среды содержали последних около 1%. Или же для получения такой же среды мы отвешивали 1,0 г соли и добавляли ее непосредственно в солевой расплавленный агар, оставляя последний в этом случае еще некоторое время на водяной бане. Опыт показал, что таким образом обеспечивается достаточная стерильность агара, так как агар после разливки его в чашки Petri обычно не прорастал. После добавления соли к среде приливалось несколько капель спиртового раствора индикатора – *Bromthymolblau* до получения достаточно интенсивной окраски.

В зависимости от того, какая соль добавлена, необходимо затем исправить реакцию среды.

При добавлении кислых солей необходимо среду подщелочить крепким раствором едкого натра, при добавлении нейтральных солей — необходимо подкислить крепкой соляной кислотой. Как щелочь, так и кислоты вносились в среду маленькими порциями до приобретения средой определенного цвета, а именно – зеленого. Среда, разлитая в чашки Petri и охлажденная, должна иметь ясный зеленый цвет, но не должна иметь оливково-зеленый оттенок, что свидетельствует о перекислении среды, так как последнее может оказать неблагоприятное влияние на рост бактерий.

Приготовленная правильно среда имеет ρ_H около 6,8.

В настоящей статье суммируются главным образом данные, касающиеся испытания группы бактерий *coli-typhus* по отношению следующих солей органических кислот: *Nat. citricum, Nat. succinicum, Nat. aceticum, Tartarus natro-natus, Nat. lacticum, Nat. formicicum, Nat. oxalicum и Calc. bimalicum.*

Посев испытуемых бактерий делался небольшими штрихами на поверхности приготовленного вышеуказанным способом и разлитого в чашки Petri агара, при чем на одной чашке оказалось возможным испытать несколько штаммов, разделив чашку на сегменты.

Засеянные таким образом чашки *Petri* ставились в термостат при 37° С. Результат посева отмечался через 24 и 48 часов. Обычно на следующие сутки уже замечался ясный рост культур, растущих на взятой среде. Через двое суток рост значительно интенсивнее. Он выражается как разрастанием культуры по штриху, так и посинением вокруг штриха среды (образование щелочи). Это посинение иногда появлялось раньше, чем можно заметить простым глазом ясный рост культуры. Культуры, неспособные использовать для своего питания взятый источник углерода (соль органической кислоты),

обычно не давали никакого роста и штрих на агаре подсыхал иногда в виде желтоватой полосы, или давали ничтожный рост, чаще через несколько суток, но при этом не наблюдалось образования щелочи и, следовательно, посинения среды. Такой рост нами не принимался во внимание и нотировался в протоколах минусом, как отсутствие разложения органической соли в среде.

Таким образом, нами было испытано около 100 штаммов *coli-typhus* — группы как музейных, так и свеже выделенных. Результаты испытания приведены в нижеследующей таблице 1.

Табл. 1.

Название вида микробов	Число штаммов	*Nat. citricum*	*Nat. succinicum*	*Nat. aceticum*	*Nat. lacticum*	*Calc. bimalicum*
B. typhi abd. . .	30	—	—	—	—	—
B. parat. A. . . .	7	—	—	—	—	—
B. parat. B. Schottmüller . . .	17	+++	++	±	+++	++
B. parat. Breslau .	5	+++	++	+	+++	++
B. parat. N_1 . .	4	++	—	+	++	—
B. parat. N_2 . .	4	+++	++	+	+++	++
B. Gärtneri . . .	4	+++	++	+	+++	++
B. suipestifer . .	2	++	++	±	++	++
B. Voldagsen . .	1	+++	—	+	+++	—
B. abortus equi „38“	1	—	—	—	+	—
B. abortus equi „Leusch 4“ . .	1	+++	+++	++	++	+++
B. Danisz'a . . .	3	++	++	+	++	++
B. Мережковского	9	—	—	—	—	—
B. coli	9	—	+++	++	+++	+++
B. paracoli . . .	6	—	+++	++	+++	+++

Примечание. Плюсами обозначена энергия роста на средах.

В таблицу не внесены результаты испытания на трех средах, а именно: с *Tartarus natro-natus*, с *Nat. formicicum* и с *Nat. oxalicum*, так как ни один из указанных штаммов на этих средах не рос.

Прежде всего необходимо отметить, что штаммы *B. typhi, parat. A* и *B. Мережковского* ни на одной из указанных синтетических сред не росли. Этим они отличаются от всех остальных исследованных нами видов. Отсутствие роста в этих случаях легче всего объяснить неспособностью указанных штаммов усваивать аммиачный азот, что уже было прежде установлено работами Braun'a [5] и его сотрудников, а также Kisch'ем [3], Werdt'ом и Kopatschek'ом [7], Pesch'ом [8]), Schmitt'ом [9]) и др. Однако некоторые штаммы *B. typhi* и *parat. A* на среде с *Nat. lacticum* давали иногда ничтожные признаки роста, но только через 3—4 и больше дней стояния посева в термостате. То обстоятельство, что некоторые штаммы *B. typhi* и *parat. A* способны в слабой степени усваивать аммиачный азот было отмечено Braun'ом [5]) и его сотрудниками, Kisch'ем [3]) и др. Так, из 15 тифозных штаммов, исследованных Braun'ом и Cohn—Bronner'ом, два обладали ничтожной способностью ассимилировать аммиачный азот. Такие же штаммы наблюдали Kisch и Schmitt, однако эти штаммы на аммиачных средах росли крайне медленно и рост обнаруживался иногда только на 50 день (Schmitt).

Если это обстоятельство и представляет известный теоретический интерес, то оно особого практического значения (а наша работа имеет в виду главным образом практическую сторону) не имеет, так как заметный рост таких штаммов на среде появляется слишком поздно, при чем он остается ничтожным, тогда как другие виды бактерий, ассимилирующие аммиачный азот, дают яркие явления роста на средах уже через 24 часа, вызывая посинение их. Штаммы же *B. typhi* и *parat. A* в тех случаях, когда они и дают ничтожный рост на среде, цвета последней не изменяют. Чтобы удостовериться еще лишний раз, действительно ли нужно думать о неспособности тифозных и паратифозных А штаммов, а также *B. Мережковского* ассимилировать аммиачный азот, нами на ряде штаммов были поставлены опыты таким образом, что к синтетической среде вместо органических солей добавлялся виноградный сахар, который, как известно, может служить источником энергии и для *B. typhi* и *parat. A* и *B. Мережковского*. В результате испытания оказалось, что тифозные, паратифозные А и *Мережковского* штаммы при указанной комбинации с глюкозойна средах не растут, т. е. и в том случае, когда для них дан легко усвояемый источник углерода, они не в состоянии ассимилировать аммиачный азот. Таким образом этим опытом подтверждается мысль, что отсутствие роста указанных видов на указанных средах обусловливается неспособностью их ассимилировать азот из аммиачных солей.

От штаммов *B. typhi, parat. A* и *Мережковского*, не растущих на наших синтетических средах, легко дифференцируются остальные паратифозные, испытанные нами виды, а также *B. coli* и *B. paracoli*, которые обладают способностью ассимилировать аммиачный азот. Однако, они относятся различно к различным источникам углерода. По их отношению к различным органическим кислотам они могут быть разбиты на три группы.

К первой группе относятся *B. parat.*, *B. Schottmüller'a*, *B. enterit. Breslau*, *parat.* N_2, *B. suipestifer*, *B. Danysz'a*, а также один из музейных штаммов *B. abortus equi „Leusch 4"*.

Все они обладают способностью в большей или меньшей степени использовать для своего питания углерод из *Nat. citricum*, *Nat. succinicum*, *Nat. aceticum*, *Nat. lacticum* и *Calc.-bimalicum* и следовательно, расти на указанных в таблице средах, вызывая уже через 24 часа, самое большее через 48 ч., посинение последних. Точно также, как и паратифы, растет на этих средах и *B. Gärtneri*. К сожалению, наша методика не позволяет дифференцировать между собою только что перечисленные виды бактерий, что особенно было бы желательно по отношению *B. parat. Schottmüller'a* и *Breslau*, дифференциации которых в последнее время посвящено много работ. Можно лишь указать на то, что на среде с *Nat. aceticum*, *B. parat. B Schottmüller'a* растет несколько слабее, давая ясные признаки роста обычно не через сутки, а через двое суток, тогда как *B. Breslau*, а также и *B. Gärtner'a* уже через сутки дает ясный рост и посинение среды. Однако эта разница не настолько значительна, чтобы ею можно было пользоваться для отличия этих двух видов.

Ко второй группе относятся *B. parat.* N_1 и *B. Voldagsen*. Они отличаются от предыдущей группы тем, что не растут на средах с *Nat. succinicum* и *Calc. bimalicum*. К сожалению, в наших руках было слишком мало штаммов этой группы, чтобы сказать насколько постоянно указанное явление.

Нужно заметить, что *B. Voldagsen*, серологически родственный *B. suipestifer (Hogcholera)*, отличается от последнего, как и от других паратифозных бактерий, некоторыми культуральными свойствами, а именно: тифоподобным ростом на сахарах.

Наши данные дополняют эти отличия новым культуральным признаком: отсутствием роста на синтетических средах с *Nat. succinicum* и *Calc. bimalicum*. Что же касается *B. parat. N* (паратифов С немецких авторов), то они — *parat.* N_1 и *parat.* N_2 — между собой культурально не различаются. Weigmann [13] на II съезде немецких микробиологов в Франкфурте н/М. говорит, что ни культурально, ни в опытах на животных отличить эти виды невозможно. Серологически же они отличаются, при чем по данным Weigmann'a [13]) *parat.* C_1 *(*N_2*)* стоит ближе к *Gärtner'овской* группе, *parat.* C_2 *(*N_1*)* — ближе к *B. suipestifer*, не будучи, однако, идентичными с ними. Нам удалось найти и культуральную разницу между двумя этими видами, при чем и здесь выявилась бо́льшая близость *B. parat.* N_2 к *B. Gärtner'a* и *B. parat.* N_1 к *B. Voldagsen*.

Наконец, третью группу составляют *B. coli* и *B. paracoli*. Как те, так и другие дают на всех средах, указанных в таблице, пышный рост, за исключением среды с *Nat. citricum*, который не может служить источником энергии для *B. coli* и *paracoli*. Неспособность *B. coli* расти на средах, в которых единственным источником углеводного питания является *Nat. citricum*, была отмечена Koser'ом и положена им в основу дифференциации *B. coli* от *B. lactis aërogenes*. Тем же свойством *B. coli* отличается и от паратифозных видов, которые, как видно из таблицы I, хорошо растут

на среде с *Nat. citricum*. Следует отметить, что на наших синтетических средах вели себя одинаково как типичные штаммы *B. coli*, так и *B. paracoli*.

Здесь же мы позволим себе указать и признаки, отличающие на наших средах *B. lactis aërogenes* как от *B. coli*, так и от паратифозных видов. Отношение *B. lactis aërogenes* к различным органическим соединениям несколько иное и показано в нижеприведенной таблице II.

Табл. II

	Число штаммов	*Nat. citricum*	*Nat. succinicum*	*Nat. aceticum*	*Nat. lacticum*	*Calc. bimalicum*	*Tartarus natro-nat.*	*Nat. formicicum*	*Nat. oxalicum*
B. lactis aërogenes . .	9	+++	+++	−	+++	+++	+	+	+

Как видно из таблицы II, *B. lactis aërogenes* в отличие от всех других перечисленных раньше видов микробов растет, хотя и не пышно, на средах с *Tartarus natro-natus*, *Nat. formicicum* и *Nat. oxalicum*, при чем на последней среде, разлагая *Nat. oxalicum*, он переводит реакцию среды не в сторону щелочную, а в кислую, вызывая не посинение, а пожелтение среды. Таким образом он отличается от ряда кишечных видов своей более широкой ферментативной способностью. Лишь по отношению к *Nat. aceticum* он оказался почти инактивным, так как, если на средах с этой солью и росли некоторые штаммы *B. lact. aërog.*, то рост этот был ничтожный и наступал слишком поздно.

Особого упоминания заслуживают два тифозных штамма, не вошедших в таблицу. Эти штаммы присланы нам *ГИНЗ'ом* как тифозные штаммы двух типов Викторова: тип „*T*“ и тип „*G*“.

Викторов среди 295 тифозных штаммов выделил 14 (4,8%) в особую промежуточную группу между палочкой брюшного тифа и пал. *Gärtner*'а. Он назвал эту группу типом „*G*“ в отличие от обычного тифа типа „*T*“. Тип „*G*“ не агглютинировался тифозными сыворотками, а сыворотки типа „*G*“, не агглютинировали типа „*T*“, однако они агглютинировали палочку *Gärtner*'а и *parat.* N$_2$, и, наоборот, сыворотки последних агглютинировали тип „*G*“.

В испытании их по нашей методике они оказались различными, как видно из табл. III.

Табл. III

Штаммы	*Nat. citr.*	*Nat. succin.*	*Nat. acet.*	*Nat. lact.*	*Calc. bimal.*
Тип „*T*“ 356	−	−	−	−	−
Тип „*G*“ 354	++	−	+	++	−

Из таблицы явствует, что в то время как штамм 356 типа „*T*“ вел себя типично как тифозный, штамм 354 типа „*G*“ по своему отношению к органическим солям оказался подобным *B. parat* N_1 и *B. Voldagsen*. По своему отношению к сахарам он ближе стоит к *B. Voldagsen*, который, как известно, отличается от остальных паратифозных бактерий своим тифоподобным ростом. Однако, как показали исследования Викторова, серологически его нельзя отнести к последнему виду. Наши наблюдения, проведенные только на одном штамме, конечно, недостаточны, чтобы сделать какие-либо выводы.

Нам удалось выявить нашим методом культуральную разницу между двумя штаммами, которые, хотя серологически и были различны, однако культурально считались идентичными.

Культурально различными в наших опытах оказались и два штамма *B. abortus equi*, полученные нами из музея живых культур *ГИНЗ'а* (см. табл. I). В то время как штамм „*Leusch 4*“ являл все культуральные признаки паратифозных бактерий первого нашего типа, т. е. хорошо рос на всех указанных в табл. I средах, штамм „38“ давал лишь ничтожный рост на среде с *Nat. lacticum* и не рос на остальных средах. Отношение к сахарам на средах Hiss'a у этих двух штаммов одинаковое, хотя и различно к бульону Stern'a. Серологически эти два штамма нами не проверены и, конечно, нуждаются еще в дальнейшем изучении.

Укажем далее, что исследованные нами два вида мышиных тифов: вид Мережковского и вид Danysz'a культурально оказались совершенно различными. Вид Мережковского оказался близок к *B. typhi abd.*, а Danysz'a к *B. parat. B.* Первый не давал роста на всех наших синтетических средах, второй прекрасно рос на них, как и *B. parat. B.*

Как известно до последняго времени в литературе не было отмечено культуральной разницы между тифом Мережковского и тифом Danysz'a и лишь в последнее время, когда наша работа была закончена, появилась статья Турандина [15]), в которой отмечено различное отношение этих двух тифов к глицериновому бульону Stern'a.

Как явствует из вышеизложенного, нам удалось найти культуральные отличия для некоторых видов из группы бактерий *coli-typhus*, которые до сих пор культурально не отличались. Так удалось подметить культуральную разницу между *B. parat.* N_1 и *B. parat.* N_2. Для некоторых же видов таких дифференцирующих признаков не удалось подметить.

Так *B. parat. B*, и *B. Gärtneri* на наших средах не дифференцируются. Это не значит, выражаясь словами Braun'a, что, пользуясь нашей методикой, их вообще не удастся дифференцировать. Если соли органических кислот, взятые нами для испытания, и не дали положительных в этом смысле результатов, то это еще не значит, что и другие органические соли или соединения, при испытании их той же методикой, окажутся также мало обещающими. Для этого необходимо продолжить опыты.

В заключение укажем, что испытание микробов по нашей методике на солевых средах чрезвычайно просто. Просто и легко

приготовление сред и они очень дешевы. Расход сред невелик, так как на одной чашке Petri, разделив ее на сегменты, можно высеять до 16 различных штаммов, не вредя этим ясности результатов. Методику эту мы уже ввели у себя в повседневную практику и в процессе нашей текущей работы мы уже успели испытать ее на ряде выделяемых из *faeces* штаммов. Опыт показал, что описанный нами здесь метод, наряду с серологическими методами, обычно позволяет легко разобраться в характере вновь выделяемого микроба.

Наконец, тут же укажем, что та же методика дифференциаций микробов по их отношению к солям органических кислот, повидимому, с неменьшим успехом может быть применена и к другим микробам. Так, один из нас [16]) с успехом воспользовался указанными синтетическими средами для дифференциации капсульных микробов.

Далее, как показали наши предварительные опыты, та же методика может быть применена как к вибрионам холерным и холероподобным, так и к группе бактерий дизентерии. Начатые работы в этом направлении еще не закончены и в ближайшем будущем послужат темой для дальнейших сообщений.

Наш материал, охватывающий небольшое число штаммов и далеко не все виды паратифов, недостаточен для окончательных выводов. Мы можем только выразить пожелание о дальнейшей его проверке на большем, чем у нас, материале.

Единственный вывод, который мы считаем себя вправе сделать — это тот, что *описанная нами методика позволит дифференцировать некоторые штаммы из групп coli-typhus.*

Однако мы еще не знаем, насколько постоянны найденные нами отличительные свойства некоторых видов, так как не знаем, насколько часто могут встречаться допустимые уже *a priori* исключения.

В одной из недавних работ Гартох, Беневоленский и Смородинцев [17]) описали один штамм *B. parat. B*, который в отличие от других гомологичных штаммов не ассимилировал аммиачного азота. Таким образом исключения возможны, но мы еще не знаем, насколько они часты. Среди наших 17 штаммов *B. parat. B* не было ни одного, неспособного ассимилировать аммиачный азот.

Когда настоящая статья уже была набрана для печати, в декабрьской книжке за 1929 г. Cbl. f. Bakt. I Abt. Orig. Bd 115, H. 1/2, появилась работа Pesch'a и Kortenhaus'a: „Die Unterscheidung der Bakterien der suipestifer-Gruppe auf Ammonchloridnährböden", в которой авторы, пользуясь синтетическими средами несколько иного состава, чем наши, указывают на возможность дифференциации между *B. suipestifer* и *B. Glässer-Voldagsen* и между паратифами C_1 и C_2 (N_2 и N_1) по их отношению к солям янтарной и яблочной кислот. Их выводы целиком совпадают с нашими.

ЛИТЕРАТУРА.

1) Uhlenhuth. Cbt. f. B. Orig. Abt. I. Bd. 97. Beih., стр. 333, 1926. 2) A. Fischer „Vorlesungen über Bakterien". Jena, 1903. 3) B. Kisch. Cbt. f. B. Orig. Abt. I. Bd. 82. H. 1, стр. 27, 1919. 4) Braun u. Cohn-Bronner. Ibid. Bd. 86. H. 1, стр. 1, 1921. 5) Они-же. Ibid. Bd. 86. H. 3, стр. 196. 6) Они-же. Ibid. Bd. 86. H. 5, стр. 380. 7) Werdt u. Kopatschek. Ibid. Bd. 84. H. 2, стр. 95, 1920. 8) Pesch K. Ibid. Bd. 86. H. 2, стр. 97, 1921. 9) Schmidt H. Ibid. Bd. 86. H. 2, стр. 119, 1921. 10) Braun u. Lisch. Ibid. Bd. 107. H. 1—3, стр. 35, 1928. 11) Koser. Цитир. по Simmons'y. 12) Simmons. Journ. of Inf. Dis. V. 39, стр. 209, 1926. 13) Weigmann. Cbt. f. B. Orig. Abt. I. Bd. 97. Beih., стр. 299. 1926. 14) Викторов. Ж. Микробиол., Пат. и Инфек, бол., т. VI, вып. I, стр. 121, 1929. 15) Турандин. Вестн. Микробиол., Эпидемиол. и Патол. (Саратов), т. VIII, вып. I, стр. 14, 1929. 16) Дроботько. Микробиол. Журн., т. VII, вып. 3, 1928. 17) Hartoch, Benewolensky u. Smorodinzeff. Cbt. f. B. Orig. Abt. I. Bd. 110. H. 1 — 3.

Из Эпид. Отд. Одесского Сан. Бакт. Ин-та, Секции Эпидемиол. и Инфекц. Болезней и Кафедры Профилакт. Мед. Одесского Мед. Ин-та.

О пигментообразующих тифоподобных палочках.

И. Левин

За последние 10-летия накопилось достаточно фактов, с несомненностью указывающих на полиморфизм в пределах тифозно-кишечной группы. Известно, что в зависимости от внешних условий могут изменяться, как морфологические, так культуральные, биохимические и серологические свойства отдельных представителей этой группы. Ни один из дифференциальных признаков того или иного вида не может считаться прочным, неизмененным. В свете этих представлений известный интерес имеет группа пигментобразующих бактерий, которые по своим свойствам близко подходят к тифозной палочке. В литературе имеется много описаний таких тифоподобных палочек, выделенных из *faeces* и мочи (Klinger, Gaethgens, Löffler, Клименко Baumann, Gräf, H. v. Hövell, Köhlisch, Dresel и Stickl, Штуцер и Квашнина и др.). При этом разными авторами дается не одинаковая оценка роли этих микробов. В то время как одни (Köhlisch, Baumgärtel, Dresel и Stickl) оставляют открытым вопрос о значении описанных ими палочек, другие (H. v. Hövell, Baumann, Штуцер) с определенностью считают указанные микробы случайными находками, сапрофитами, не имеющими отношения к тифозному бациллу. Наконец, Dresel и Stickl полагают, что выделенные ими штаммы, образующие желтый пигмент, являются мутационной формой тифозной палочки. Больше того, Dresel и Stickl удалось путем высевов желтых колоний на чашках с агаром получить типичные формы палочки Eberth'a. Это дает им основание сделать следующие выводы. Нельзя исключить того, что описанные измененные палочки вирулентны. С другой стороны, они, согласно современным воззрениям, не диагностицируются как тифозные палочки. Поэтому с известной вероятностью можно допустить, что подобные штаммы являются связующим звеном между отдельными случаями тифозных заболеваний, отделенных друг от друга значительным временем. Поэтому в целях борьбы с тифом авторы рекомендуют трактовать больных, у которых выделены аналогичные штаммы, как подозрительных по брюшному тифу, и не упускать из своего поля зрения до уяснения вопроса, путем длительного бактериологического исследования.

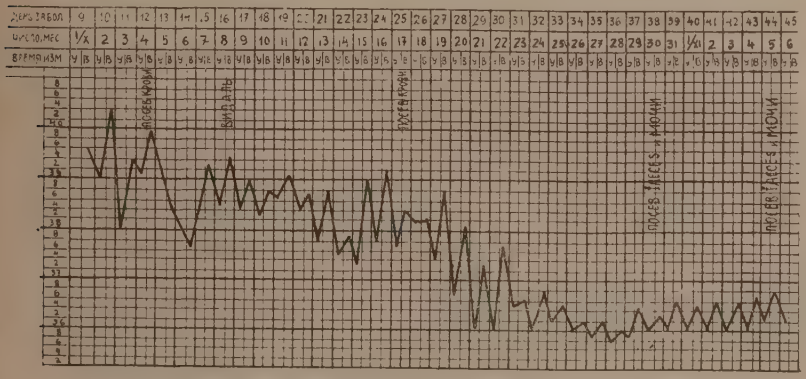
Мы считаем интересным привести описание желтого штамма, выделенного из крови и агглютинировавшегося сывороткой больного. В процессе изучения этого штамма нам удалось получить 2 варианта, дающих разные оттенки желтого пигмента.

Аналогичный случай выделения желтой тифоподобной палочки из крови описан Kohlisch'ем. Из крови больного во время рецидива после тифоподобного заболевания выделены 3 штамма подвижных, грамнегативных палочек, вырабатывающих желтый пигмент. На *Lakmusmolke* они дают реакцию, аналогичную паратифу *B*, в виноградном сахаре газа не образуют и по отношению к манниту дают неодинаковый результат. Один из описанных штаммов агглютинировался сывороткой больного в разведении 1:800 (выше не поставлено). Сыворотка паратифа *B* давала агглютинацию со всеми штаммами (от 1:200 до 1:1600—при титре 10000—в 1 случае). Сыворотка, полученная при иммунизации кроликов указанными штаммами, агглютинировала, помимо гомологичного, оба других, 1 тифозный штамм, 3— *dys.* Flexner и в единичных случаях паратиф *B*. С течением времени получились отщепления, ввиде бесцветных колоний, растущих синими на чашках Drigalsky.

Интересно, что Köhlisch находил в почве микроорганизмы, похожие по своим свойствам на выделенные из крови больного. Вопрос о роли указанных микробов в патологии тифоподобных заболеваний автор оставляет открытым.

Baumgärtel*) сообщает о палочке, подобной описанной Köhlisch'ем выделенной в 12 случаях из крови во время эпидемии паратифа *A*. Baumgärtel полагает, что в данном случае речь идет либо о мутационной форме, либо о новом типе паратифозных палочек.

Привожу историю болезни и температурную кривую нашего случая.



Ков-н Е. 42-х лет, крестьянин. Получил противотифозную прививку во время империалистической войны. Поступил в больницу I/X с жалобами на сильные головные боли, недомогание и высокую температуру. До этого лежал дома с неделю. Больной правильного телосложения, хорошего питания. Сыпи нет. Язык обложен, суховат, живот вздут, селезенка прощупывается с 7-го ребра. Пульс 86 в минуту, вялый, тоны сердца чисты. В легких сухие хрипы. Стул самостоятельный.

5/X — головная боль и кашель. Пульс 82 в минуту — напряжен. Тоны сердца глуховаты. В обоих легких сухие хрипы. Живот умеренно вздут. Селезенка не прощупывается. Стул после клизмы.

*) Цит. по Dresel и Stickl.

9/X — 2 раза жидкий стул с небольшой примесью крови и слизи. Живот несколько вздут.

14/X — днем бред. Язык обложен. Обильные хрипы в обоих легких.

21/X — температура с утра — 36°. Язык обложен. Хрипов значительно меньше.

29/X — состояние хорошее. Язык очищается, влажен, стул после клизмы В легких единичные хрипы.

6/XI — язык чистый. Пульс 76 в минуту, удовлетворительного наполнения. Тоны сердца чисты. В легких изредка единичные хрипы. Общее состояние хорошее. Выписывается в изолятор.

4/X посеяно 2 куб. см крови на желчь с отрицательным результатом. Реакция Widal'я с тифозными палочками дала положительный результат в разведении 1:50, с пар. *A* и *B* отрицательную.

8/X реакция Widal'я на тиф положительна (1:100), на пар. *A* и *B* — отрицательна.

17/X (на 24-й день болезни) в 7 часов вечера при T° 38,4 мною сделан обильный посев крови на желчь. 28/X из среды накопления выделена палочка, продуцирующая желтый пигмент.

С середины 28 года мы часто прибегали к методу обильного посева крови (20 куб. см) на желчь как для целей проверки преимущества этого метода перед обычным посевом, так и для практических целей. Кровь обычно засевалась на 50 куб. см желчи и через 24 часа из среды накопления делался высев на чашки со средой Drigalsky. При отрицательном результате производился повторный пересев через 5 и 10 суток. Результаты этих наших наблюдений будут приведены в другом месте. Здесь же считаем нужным отметить, что на 40 с лишним посевов только в 1 случае пересев через 10 суток оказался положительным при отрицательных пересевах через 1 и 5 суток. В данном случае было высеяно через 10 дней на чашку Drigalsky 10 петель из среды накопления. Через 24 часа на чашке выросли желтоватые колонии, которые при комнатной T° на следующий день приняли более интенсивную желтую окраску.

При посеве выделенного нами штамма на агаровые пластинки получаются через 16часов нежные, прозрачные колонии, принимающие спустя 8—10 часов желтоватую окраску. Окраска становится более интенсивной через 48 — 72 часа после засева. При этом отмечается, что при комнатной T° наступает более резкое окрашивание, чем при стоянии в термостате. В суточном посеве на агаровых пластинках преобладают колонии в 3 — 4 мм в диаметре, слегка выпуклые с резко очерченными краями. При бактериологическом исследовании обнаружена небольшая палочка 0,5 — 2,5 μ с закругленными концами, грамнегативная, подвижная. На бульоне дает нерезкую равномерную муть. Желатину не разжижает. Молоко свертывает через 72 — 96 часов, реакция кислая. На картофеле пышный влажный налет. Реакция на индол (по Сальковскому с последующей проверкой по Ehrlich'y) отрицательна. На *Lakmusmolke* дает через 25 — 48 часов порозовение, на 4-е сутки:— легкое посинение, которое в дальнейшем становится более интенсивным. Сбраживает с образованием кислоты следующие углеводы: арабинозу, галактозу, глицерин, глюкозу (без газообразования), ксилозу, левулезу, мальтозу и сахарозу; не разлагает лактозу, дульцит и маннит. Среду Rotberger'a не изменяет.

Внутрибрюшинное введение свинке 1 нормальной петли живой культуры и кормление мыши обнаружило непатогенность исследуемых микробов.

29/X — поставлена агглютинация с выделенным штаммом, давшая положительные результаты:

со специфической тифозной сывор.	—	в разведении	1 : 500
с сывороткой пар. *A*	—	„	1 : 100
с сывороткой пар. *B*	—	„	1 : 200

В тот же день поставлена р. Widal'я с сывороткой больного с такими результатами:

с тифозной культурой	плюс	в разв.	1 : 200
с пал. пар. *A*	минус	„	1 : 200
с пал. пар. *B*	„	„	1 : 200
с желтым штаммом	плюс	„	1 : 400

Повторного посева крови не удалось сделать, так как у больного установилась нормальная T° и 6/XI он был выписан. Исследование *faeces* и мочи, взятых 30/X и 5/XI, дало отрицательный результат.

Для дальнейшего изучения выделенного штамма мы провели его через 10-ти кратный пересев на чашках со средой Drigalsky. Чашки оставались в термостате на 48 часов и каждый раз отсевались типичные желтые колонии. Культуры, полученные таким образом, при проверке их как в биохимическом, так и в метрологическом отношении ничем не отличались от исходной культуры.

Пользуясь указанием Dresel и Stickl'я, что им удалось путем высевов на чашки с агаром получить отщепление, в виде типичных культур брюшного тифа, мы провели целый ряд таких высевов. В результате получены 2 типа колоний: один — (101), по форме ничем не отличающийся от исходного, и другой (1001), потерявший способность вырабатывать пигмент. При многократном проведении штамма 101 через простой агар и бульон получаются колонии, дающие на агаре и среде Drigalsky разные оттенки желтой окраски. За исключением пигментообразования штаммы 101 и 1001 ничем не отличаются друг от друга и от исходного штамма (100).

Отмеченное явление, т. е. что пигментообразование является, как и другие дифференциальные признаки микробов, изменчивым свойством, уже давно известно. Целый ряд авторов наблюдал, что характер и степень пигментообразования изменяются в зависимости от изменения физических и химических свойств среды (Caminiti, Lasseur и Thiry, Köhlisch, Dresel и Stickl, Штуцер, Дмитриевская и др.). Интересно, что Dresel'ю удалось, путем культивирования нормальных тифозных палочек на тюльпанах, получить штаммы, дающие, наряду с некоторыми биологическими и серологическими отклонениями, образование коричнево-желтого пигмента на агаре.

Для изучения серологических особенностей полученных штаммов мы поставили прямой и перекрестный опыт насыщения по Castellani. В результате длительных пересевов повысилась агглютинабильность штаммов 100, 101 и 1001 специфической тифозной сывороткой (до 1 : 3200). Мы насытили специфическую тифозную сыворотку (титр 1 : 12000) отдельно штаммами 100, 101

и 1001, но и после этого сыворотка агглютинировала нормальную тифозную культуру до высоты титра. Таким образом наши штаммы не обладают общностью рецепторов с типичной тифозной культурой.

Штаммами 101 и 1001 иммунизированы по 1 кролику ($2^1/_2$ и 2,7 кг) троекратно с промежутками в 6—7 дней. Эмульсия вводилась внутривенно (I—0,1 петли мертвой культуры, II—0,1 живой культуры и III—0,5 живой культуры). Предварительные опыты насыщения по Castellani указывали на идентичность сывороток 101 и 1001. Однако эти сыворотки не истощаются в отношении гомологичного штамма при предварительном насыщении палочками тифа, пар. *A* и *B*. Следовательно как прямая, так и перекрестная агглютинация по Castellani дала отрицательный результат.

Таким образом, из крови больного на 25-й день заболевания выделена (путем обильного посева на желчь) пигментообразующая палочка, агглютинирующаяся сывороткой больного (1:400). При проведении через искусственные среды получен штамм, отличающийся от исходного только отсутствием пигментообразования. По своим морфологическим свойствам, подвижности, сбраживанию глюкозы без газообразования, отрицательной реакции на индол, отношением к среде Rotberger'a (с нейтральротом), лактозе, дульциту и отчасти серологическим свойствам выделенная палочка напоминает бациллу Eberth'a, но отличается от последний образованием щелочи в *Lakmusmolke*, сбраживанием молока, разложением сахарозы и отрицательной реакцией Castellani.

Является ли описанная палочка виновником заболевания у нашего больного или же случайной находкой—на основании только одного нашего случая трудно сказать. Близость многих пигментобразующих палочек по тем или иным свойствам к тифозной группе и нахождении их в крови (Köhlisch, Baumgärtel, наш случай) позволяют нам сделать вывод о необходимости не упускать из виду такие случаи и подвергать их дальнейшему изучению. Возможно, что при этом мы получим ряд данных, представляющих как бактериологический, так и эпидемиологический интерес.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Klinger, Zbl. f. Bakt. B. 32, S. 572. 2. Gaethgens, там же, B. 38. 3. Löffler, D. m. W. № 8. 1906. 4. Klimenko, Zbl. f. Bakt. B. 43, S. 755. 5. Baumann, Arb. a. d. Kais. Ges. B. 29, S. 372. 6. Gräf, Zeitschr. f. Hygiene. B. 54, S. 201. 7. H. V. Hövell, Zbl. f. Bakt. B. 77, S. 449. 8. Köhlisch, там-же, B. 78, S. 136. 9. Dresel и Stickl, D. m. W. №13. 1928. 10. Штуцер и Квашнина—Журн. микр., пат. и инф. бол. т. VI, в. 2, стр. 30. 1929. 11. Caminiti, Zbl. f. Bakt. B. 43, S. 753. 12. Дмитриевская, Архив биол. наук, т. 29, стр. 217. 1929.

Из Военно-Ветеринарного Микробиологического Института.
Ленинград.

Bac. abortus equi и типовое различие паратифозной группы по учению Кильской школы.

Ф. А. Турандин.

Инфекционная природа эпизоотического аборта кобыл была впервые установлена в 1893 году Kilborn и Smith'ом, которые выделили возбудителя—палочку из группы *coli-typhus*. Meyer и Boerner подтвердили это и назвали эту палочку *Bac. abortus equi*.

Кроме этого вида, в этиологии аборта лошадей принимают участие и другие микроорганизмы. В современной литературе имеются данные о том, что в этиологии данной инфекции принимают участие следующие микроорганизмы: *B. viscosum equi*, *B. coli*, стрептококки и стафилококки. Однако самым частым возбудителем является *Bac. abortus equi*.

В России впервые инфекционную причину аборта кобыл установил Поляков в 1901 году. Выделенного им возбудителя, на основании морфологических свойств, он отнес к группе геморрагической септицемии, но последующими исследованиями Бекенского эта палочка на основании культуральных свойств была определена, как паратифозная палочка.

Эпизоотия аборта на конских заводах, влекущая за собой потерю ценных маток, нередка и наносит большой ущерб успехам коневодства. Поэтому изучение биологии возбудителя данной инфекции является весьма важным вопросом.

Имея в своем распоряжении 17 штаммов *B. abortus equi*, выделенных Воен.-Вет. Микроб. Институтом, Ташкентской Вет.-Бакт. лабораторией (зав. Радзивиловский) и Сев.-Кавказск. Вет. Бакт. лабор. (зав. Гурвич) мы занялись изучением биологии и точным определением его к той или иной группе паратифозных микробов.

На основании литературных данных некоторые авторы относят *B. abortus equi* к группе типа Fluegge-Kaensch'a, а другие к группе *B. paratyphi B.*

Благодаря современному учению о типовом различии паратифозных микробов, которое дала нам Кильская школа, мы имеем возможность определить изучаемый микроб с точки зрения этого принципа, что и послужило для нас темой настоящего сообщения. Нас особенно интересовал вопрос, в какую группу отнести наши штаммы: в группу *B. enteritidis Breslau* или в группу *B. paratyphi B.* Это особенно необходимо выяснить для штаммов, выделен-

ных в СССР, так как подобных сообщений в нашей литературе мы не нашли.

Основным различием между *B. enteritidis Breslau* и *B. paratyphi B* Schottmüller по учению Кильской школы (R. Müller, Conradi, Bitter, Schiff) в противоположность школе унитаристов (Schottmüller, Uhlenhuth) являются следующие признаки:

1. *B. paratyphi B* на средах Conradi-Drigalski, Endo, Gassner'a образует колонии, которые после 24 час. пребывания при 37° С и 1—2 суток при комнатной температуре окружаются слизистым валиком. Энтеритные палочки этого феномена не дают.

2. На косой мясо-пептон-желатине *B. paratyphi B* дает слизистый влажный налет, который приблизительно на 10 день сползает. У *B. enteritidis Breslau* это свойство отсутствует.

3. На среде, предложенной Bitter, Weigmann и Habs'ом с рамнозой и метилрот, B. *paratyphi B* дает желтую окраску, а *B. enteritidis Breslau* — красную. Свойство дифференциации основано на более интенсивном кислотообразовании у *B. enteritidis Breslau*, чем у *B. paratyphi B.*

4. *B. paratyphi B* на раффинозном агаре дает пуговчатые колонии, которые у *B. enteritidis Breslau* отсутствуют или выражены слабо, а у *B. enteritidis* Gärtner отсутствуют.

5. Скармливание белым мышами культуры *B. paratyphi B* остается без результата в то время, как скармливание *B. enteritidis Breslau* ведет к смерти в течение 8—10 дней. В последнем случае из крови сердца павших животных можно выделить чистую культуру *B. enteritidis Breslau.*

6. Разница в клинической картине: тифоподобная форма присуща *B. paratyphi B*, острый гастро-энтерит — *B. enteritidis Breslau* и *B.* Gärtner'a. Здесь может быть переход одной формы в другую.

Особенно большой ценностью обладает среда, предложенная Stern'ом для дифференциации паратифозных палочек типа Schottmüller'a, *Breslau* и Gärtner'a от паратифозных палочек, вызывающих инфекцию у животных. Бульон Stern'a, засеянный *B. enteritidis Breslau*, после суточного пребывания в термостате, принимает вишнево-красную окраску. *B. paratyphi B*, при тех же условиях, вызывает красную окраску. *B. enteritidis* Gärtner'a дает цвет, как при росте *B. paratyphi B* или же как у *B. enteritidis Breslau.* Возбудители паратифозной инфекции у животных цвета бульона Stern'a не меняют в течение многих дней.

Прежде, чем перейти к вопросу о типовом различии, мы изучили основные морфологические и культуральные свойства исследуемых штаммов *B. abortus equi.*

Морфология. Маленькая палочка с закругленными концами, весьма подвижная (перитрих) и не красящаяся по Gram'у. Часто в мазках из культуры можно видеть длинные нити и палочки, расположенные цепочками. Иногда полюсы окрашиваются интенсивнее, чем центр. *Мясо-пептонный бульон.* Равномерная муть и небольшой осадок. У некоторых штаммов образуется тонк

сухая пленка. *М. п. агар (косой)*. Серовато-белое просвечивающее наложение, конденсационная вода мутится. Все штаммы можно разделить на два типа: один дает сухой налет на поверхности агара, другой — влажный, первый тип преобладает. *М.-п.-желатина* (уколом). Равномерный рост вдоль всего уколочного канала, в виде серовато-белого стержня. Желатина не разжижается. Barsiekow — *glucosa*. Через 24—48 час. покраснение и выпадение казеина. Barsiekow — *lactosa*. Без изменений. Barsiekow — *saccharosa*. Без изменений. *Hetschlösung — mannit*. Через 24—48 час. покраснение и выпадение казеина. *Hetschlösung — maltosa*. Покраснение и выпадение казеина. *Neutralrotagar* — Rothberger-Scheffler. Через 24 часа разрыв агара и резкая флюоресценция. *Бульон* Омелянского. — Пузырьки газа и резкая редукция. *Lakmusmolke*. Через 24 часа покраснение, через 2—3 дня посинение. *Молоко*. Через 7—14 дней просветляется и становится прозрачным, желтым, принимая резко щелочную реакцию (на лакмус). *Kongorot—agar, Agar—Endo, Agar*— Conradi-Drigalsky. Прозрачные, круглые колонии, не меняющие цвета среды. *Agar* — Gassner'a. Желтые, прозрачные колонии.

Все исследуемые штаммы не давали положительной реакции на сероводород (среда с *Plumbum aceticum*) и на индол (реактив Ehrlich'a).

В отношении потребности кислорода *B. abortus equi* относится к факультативным анаэробам.

Из признаков типового различия микробов паратифозной группы для *B. abortus equi* нами были поставлены опыты на феномен валообразования, феномен сползания на желатине, реакцию в *Rhamnosemolke*, опыт скармливания мышам и рост на бульоне.

Феномен валообразования. Все исследуемые штаммы на твердых элективных средах дали положительные результаты, в смысле валообразования. На чашках Petri со средой, после пребывания в термостате в течение 16—20 час. и 24—48 час. при комнатной температуре, выросшие колонии окружались слизистым валом, который весьма резко выделялся над центром. При исследовании этих колоний под малым увеличением микроскопа (ок. 3, объек. 3, Leitz) было заметно, что слизистый вал радиально исчерчен. Эта радиальная исчерченность у некоторых штаммов (Ташкентские) была заметна и макроскопически после 4—7 дней пребывания при комнатной температуре. Феномен валообразования с радиальной исчерченностью особенно демонстративно выделялся на среде Conradi—Drigalsk'oго и был менее заметен на средах Endo и Gassner'a. Наличие нескольких колоний угнетает валообразование. В центре чашки, где колонии близко соприкасаются друг с другом, валообразование слабо развивается. У колоний, которые изолированно лежат с краю чашки, валообразование с радиальной исчерченностью более резко выражено.

Феномен сползания на желатине. При засеве на косую м.-п. желатину рост получается на 2—3 день, в виде сухого или влажного налета. Это свойство влажности параллельно свойству агаровых культур. Большой сухостью отличались Ташкентские

штаммы. У дна пробирки наложение всегда принимало складчатый характер, при чем складчатость напоминала вид виноградного листа. Это свойство опять-таки особенно выделялось у ташкентских штаммов. Сползания культуры с поверхности на дно пробирки ни у одного штамма не происходило. Наблюдение велось в течение 20 дней, до тех пор, пока желатина не начала подсыхать.

Рост на Rhamnosemolke. Среда готовилась по следующему рецепту: *Aquae destill.* 100 куб. см, *Natr. phosphorici* 0,05 куб. см, *Amm. sulfurici* 0,1 куб. см, *Natr. citrici* 0,2 куб. см, *Natr. chlorati* 0,5 куб. см, *Peptoni Witte* 0,005 куб. см, *Rhamnose* 0,5 куб. см.

После дробной стерилизации среда в пробирках засевалась исследуемыми штаммами, и через 16 часов к выросшей культуре добавлялось 1—2 кап. 0,5% спиртового раствора *methylrot.* У всех штаммов *B. abortus equi* получался желтый цвет.

Одновременно ставился контроль с засевами *B. paratyphi B* и *B. enteritidis Breslau.* В пробирке с *B. paratyphi B* цвет получался желтый, а с *B. enteritidis Breslau*—красный.

Скармливание мышам. При кормлении бульонной культурой *B. abortus equi* разных штаммов, смертельной инфекции у белых мышей не происходило, даже при усиленной дозировке (1 пробирка суточной бульонной культуры в день). Подкожная инъекция (0,1—0,2 куб. см бульонной суточной культуры), напротив, вела к смертельному заражению на 3—7 день. В этом случае мы имели картину септицемии с увеличением селезенки и поражением кишек. Из крови сердца и селезенки всегда получалась чистая культура *B. abortus equi.* Во всех опытах нам ни разу не удалось вызвать смертельную инфекцию при скармливании, что дает право отличать этот вид от энтеритных палочек.

Рост на бульоне Stern'a. Простерилизованный бульон в пробирках засевался всеми исследуемыми штаммами *B. abortus equi* и ставился в термостат при 37° С. Одновременно на ту же среду производились засевы культур *B. paratyphi B* и *B. enteritidis Breslau.*

Во всех пробирках, засеянных культурой *B. abortus equi,* бульон через 24 часа роста становился мутным и принимал слабо розоватый оттенок. В течение 10 дней бульон Stern'a с культурой *B. abortus equi* не принимал окраски, характерной для *B. paratyphi B* и *B. enteritidis Breslau.* В пробирках же, засеянных культурой *B. enteritidis Breslau* и *B. paratyphi B,* через 24 часа цвет бульона резко изменялся. У первого цвет был темно-вишневый, у второго—резко-красный.

Агглютинация исследуемых штаммов *B. abortus equi* была поставлена с сывороткой паратифа *B.* Эта сыворотка агглютинировала до своего предельного титра *B. abortus equi.* Получившиеся результаты навели нас вначале на мысль об идентичности *B. paratyphi B* с *B. abortus equi.* Дальнейшие опыты не подтвердили этого. Метод Castellani показал следующее: сыворотка *par. B,* насыщенная *B. paratyhi B,* не содержала агглютининов по отноше-

нию *B. abortus equi* и, наоборот, сыворотка *par. B*, насыщенная *B. abortus equi*, содержала специфические агглютинины для *B. paratyphi B*. Таким образом из этого вытекает следствие, что сыворотка *par. B* содержит групповые агглютинины для *B. abortus equi*.

Хотя все наши исследования над *B. abortus equi* далеко не закончены, но на основании вышеполученных данных вытекают следующие выводы:

1. *B. abortus equi* дает колонии с резко выраженным валом и радиальной исчерченностью.

2. Феномен сползания на желатине и положительная реакция на *Rhamnosemolke* отсутствуют.

3. При скармливании культуры для белых мышей *B. abortus equi* апатогенен.

4. Бульон Sterna, засеянный культурой *B. abortus equi*, не дает положительной окраски, характерной для *B. paratyphi B*, *B. enteritidis Breslau* и *B. ent.* Gärtner.

5. На основании феномена валообразования, отрицательной реакции на *Rhamnosemolke*, опыта скармливания мышам, реакции агглютинации с сывороткой *Par. B—B. abortus equi* можно отнести к группе *B. paratyphi B.*

6. Особенности роста на некоторых питательных средах, отрицательные свойства на бульоне Stern'a и реакция агглютинации дифференцируют *B. abortus equi* от *B. paratyphi B* Schottmüller'a.

Из Биологического Отдела Санитарного Института им. Эрисмана Мосздравотдела.

К методике приготовления элективной среды для холерного вибриона.

П. П. Дьяконов

Уже исследованиями Kitasato (1888), Voges'a (1893), Deelemann'a и др. можно считать установленным, что холерный вибрион способен выносить втрое большее процентное содержание натронной щелочи в среде по сравнению с калийной щелочью, и что, в отношении элективности среды, большое преимущество принадлежит углекислой щелочи перед едкой щелочью. И все же по вопросу об оптимальной щелочности среды имеются еще неясные стороны. С одной стороны Stutzer и Burri указали, что оптимальная щелочность различна для свежевыделенных и для старых лабораторных штаммов: для первых — 2% кристаллической соды, а из лабораторных штаммов некоторые требовали 0,9% соды, а другие лишь 0,2 — 0,3%. С другой стороны, учитывать приходится процесс „созревания" среды. Этот процесс Neufeld и Woithe ставят в зависимость от способности щелочей связывать свободный кислород атмосферы и богато снабжать им вибрионов; но тут же определенную роль они отводят процессу образования щелочных альбуминатов. На значение альбуминатов указал и Dieudonné: 0,6% свободной щелочи (титров. серной кислотой) в его среде представляет большое преимущество для роста холерного вибриона, тогда как простое доведение обычной агаровой среды до 0,6% свободной щелочи (путем добавления *KOH*) никаких преимуществ вибриону не дает; он же указал, что „для подсушивания" среда его должна после разливки простоять несколько дней при 37° или 5 мин. при 60°. Huntemüller считает, что нужно дать улетучиться аммиаку. Однако, Neufeld и Woithe экспериментально доказали, что дело здесь не в аммиаке (аммиака холерный вибрион способен переносить почти двойное количество, по сравнению *B. coli*); главное значение принадлежит, по их мнению, „притуплению" щелочности — связыванию щелочи белком. Наряду с этим верное соображение высказал и Pilon по вопросу о „созревании" среды Dieudonné: едкой щелочи на поверхности среды первоначально слишком много; когда она, притягивая углекислоту воздуха, перейдет в углекислую щелочь, можно приступать к засеву. Pilon и предлагает заменить в среде Dieudonné нормальный раствор едкого калия 12%-ным раствором кристаллического углекислого натрия в том же относительном количестве. Результаты его очень утешительны, в частности, в смысле подавления роста *B. pyocyaneus*, который на типичной среде Dieudonné растет хорошо. Остается отметить практически важное предложение Esch'a и Шапшева (замена дефибринированной крови раствором гемоглобина) и в особенности комбинированное предложение Kabeshima (использование раствора гемоглобина и углекислой щелочи при приготовлении элективной среды для холерного вибриона).

Последний упоминаемый карбонатно-гемоглобиновый агар Kabeshima всего более оправдал свое назначение в поверочных работах других исследователей. Так Яковлев подчеркивает возможность пускать среду в ход сразу после разливки, причем получается пышный и характерный рост холерного вибриона уже через 12 — 15 час., почти полное подавление роста других микроорганизмов, встречающихся в испражнениях. И действительно здесь намечается уже законченная методика по приготовлению элективной среды для холерного вибриона.

Для окончательного суждения о элективности остаются еще все же неустановленными некоторые немаловажные пункты:

насколько пригодна среда для свежевыделенных штаммов (по сравнению с лабораторными штаммами) холерного вибриона, насколько пригодны препараты гемоглобина разных марок и насколько элективна среда при наличности таких конкомиттирующих видов, как *B. pyocyaneus, B. coli, B. typhi, B. paratyphi, B. paratyphi A, B. paratyphi B, V.Finkler-Prior, V. Metschnikowi.* Разъяснению этих пунктов я и посвятил нижеследующее исследование.

Бактериальными объектами служили для меня: 3 свежевыделенных штамма холерного вибриона (1 — из Сталинграда, 2 — из Москвы — эта часть исследования относится к периоду холерной эпидемии 1920 — 21 гг.); затем, 2 лабораторных штамма холерного вибриона и по 1 лабораторному штамму перечисленных только что — кишечной палочки, тифозной, паратифозных *A* и *B*, синегнойной, холероподобных вибрионов (*Finkler-Prior* и *Metschnikowi*). Материалами для среды служили мне: гемоглобин двух марок (Merck и Keller) и химически чистая кристаллическая сода ($Na_2CO_3 + 10H_2O$). Первоначально я испробовал также концентрации, с которыми работал Kabeshima: углекислый натрий — 1,8%, экстракт гемоглобина Pfeiffer'a — 3%. Однако, уже с первых же шагов я убедился в необходимости изменить данные этим автором концентрации того и другого ингреди нта (весьма вероятно отчасти в связи с тем, что гемоглобин был у меня не той марки, которой пользовался он).

В продолжительных и кропотливых своих предварительных пробах я стремился прежде всего возможно богаче снабдить среду гемоглобином, а затем уже подогнать к этому количеству гемоглобина высшее же количество соды, другими словами такое, которое связавшись с наличным гемоглобином, оставалось бы в среде в виде излишка, еще не вредного для холерного вибриона, но уже подавляющего рост других конкомиттирующих бактерий. Не останавливаясь подробно на всех этих предварительных пробах, укажу, что лишь известное ограниченное количество гемоглобина может равномерно распределяться в среде. Высшее количество, как мне удалось определить — 2,5% к общему количеству среды. Дальше я наталкивался на то осложнение, на которое указывают Baertlein и Gildemeister — на образование осадков при застывании агара. По их словам осадки делу не мешают, но с теми двумя образцами гемоглобина, которые у меня были под рукой, осадки при всей тщательности растирания и размельчения были настолько объемисты, что сильно мешали уловить начало роста вибриона. Итак, выше 2,5% гемоглобина я не шел. 2,5 г гемоглобина я растирал сначала в сухом виде в ступке, затем, продолжая растирать, я добавлял 15 куб. см физиолог. раствора поваренной соли и, наконец, туда же добавлял то или иное количество соды (1,8, 3,0, 4,0, 5,0, 8,0 г), и еще 15 куб. см воды. Смесь ставилась в водяную баню, доведенную до кипения, и выдерживалась в 70 куб. см расплавленного 4%-ного нейтр. агара, тщательно смешивалась с ним взбалтыванием и разливалась в чашки Petri. Эти последние подсушивались в термостате при 37° C ¾ — 1 час и после того засевались взвесями выше перечисленных видов микроорганизмов.

Результаты таковы (рост при 37° C прослеживался через 8 час., через 20 часов и через 30 часов):

При концентрациях соды 1,8% и 3%, среда элективностью не обладала: все испытанные бактериальные виды образовывали на ней колонии уже спустя 8 часов. При 4% соды, из испытанных штаммов вибрионов, колонии дали лишь холерные вибрионы, причем свежевыделенные штаммы неизменно давали рост лучший, чем штаммы лабораторные (ср. вышецитированные данные Stutzer'a и Burri); холероподобные штаммы даже и спустя 30 час. ника-

кого роста не дали; из бациллярных видов только *B. pyocyaneus* дал тут единичные колонии и то лишь спустя 20 часов. Приблизительно та же картина получилась и при введении 5% соды в среду: из вибрионов только холерные вибрионы дали в 8—30-часовой срок колонии, впрочем лишь единичные и мелкие колонии; из бациллярных видов только *B. pyocyaneus* дал единичные колонии спустя 30 час. При 8% соды, спустя 8 час., — нигде никакого роста; спустя 20 час. — единичные колонии свежевыделенных штаммов холерного вибриона, а спустя 30 часов — единичные колонии и лабораторных штаммов холерного вибриона; холероподобные и бациллярные штаммы (в том числе и *B. pyocyaneus*) ни разу тут роста не дали и спустя 30 часов.

Как видно из приведенных результатов, оптимальные и притом элективные условия роста для холерного вибриона оказались на-лицо при добавлении к нейтральному агару гемоглобина 2,5% и соды 4%. Засевал я тотчас; в отдельных опытах я производил засевы холерного вибриона и др. бактерий по истечении $1^1/_2$—2-х суток и получил впечатление, что „перезревания" (падения элективности) среды в этот срок не наступает. Систематических исследований в этом направлении я не производил по той простой причине, что уж слишком просто приготовлять эту среду и никакой необходимости предварительно заготовлять ее нет.

Конечно, я далек от мысли, что одними моими данными исчерпывается вопрос о приготовлении элективной среды для холерного вибриона. Правда, в согласии с полученными результатами стоит и целый ряд теоретических предпосылок, которые я привел выше, но, само собой разумеется, крайне необходимы дальнейшие чисто практические проверки, как на новых свежевыделенных штаммах холерного вибриона, так, подчеркну, на свежевыделенных штаммах различных холероподобных вибрионов. Наконец, нельзя упускать из внимания, что гемоглобин различных марок, различных фирм может оказаться способным связывать различные количества щелочи, почему необходимо было бы иметь под рукой в лабораториях испытанный препарат определенной марки.

ЛИТЕРАТУРА.

1) Arens. M. med. Woch. 10, S. 190. 1893. 2) Бердников, А. И. Русский врач. № 36, стр. 1196. 1909. 3) Baerthlein. B. klin. Woch. 4. 1912. 4) Deelemann. Arb. aus dem Kais. Gesundheit. 13 Bd., S. 374. 1897. 5) Dieudonné A. Centr. f. Bakt. I Abt. Orig. Bd. L, H. I, S. 107. 1909. 6) Dieudonné A. u. Baerthlein K. M. med. Woch. 32. 1912. 7) Esch P. D. med. Woch. 12, S. 559. 1910. 8) Gildemeister, E. u. Baerthlein, K. M. med. Woch. 21, S. 705. 1915. 9) Hachla, J. u. Holobut Th. Centr. f. Bakt. I Abt. Orig. Bd. 52, H. 2, S. 299. 1909. 10) Haendel u. Baerthlein. Arb. aus dem Kais. Gesundheit. XL Bd., 4 H., S. 357. 1912. 11) Huntemüller. Centrbl. f. Bakt. Bb. L, H. 1, S. 109. 1909. 12) Kabeshima. Centrbl. f. Bakt., Bd. 70. 13) Laubenheimer K. Centrbl. f. Bakt. I Abt. Orig., Bd. 52, H. 2, S. 294. 14) Neufeld u. Woithe. Arb. aus dem Kais. Gesundheit. Bd. XXXIII, S. 605. 1910. 15) Pergola. Centrbl. f. Bakt., I Abt. Orig., Bd. 54, H. 5, 1910. 16) Pilon. Centrbl. f. Bakt. Bd. 60, H. 3—4, S. 330. 17) Sineff, A. und Droadowitsch, R. Centrbl. f. Bakt. I Abt. Orig., Bd. 52, H. 3, S. 429. 1909. 18) Tuschinsky. Centrbl. f. Bakt. I Abt., Orig., Bd. 54, H. 1, S. 91. 1910. 19) Шапшев. Русск. врач № 13. 1916. 20) Яковлев, В. И. Учение о микроорганизмах, 3 ч. СПБ. 1916.

Из б-цы им. С. П. Боткина и Центр. Комм. Поликл. в Ленинграде

Два случая стрептотрихоза человека.

М. А. Рапопорт.

Так как русская литература довольно бедна сообщениями о редких формах грибковых заболеваний, я позволю себе описать два случая стрептотрихоза человека.

I случай относится к 1925 г. В б-цу им. Боткина был доставлен больной в тяжелом септическом состоянии, с явлениями со стороны сердца и с жалобами на боль в правом подреберьи. Первоначальный диагноз „гнойный холецистит" заменен диагнозом „гнойный перикардит" и больной переправлен для оперативного вмешательства в б-цу 5-летия октября к проф. Э. Р. Гессе. При пункции перикарда получена мутноватая жидкость, переданная для исследования в лабораторию б-цы Боткина. По отстаивании жидкости, на дне пробирки осел значительный гнойный осадок. В мазках из гноя, окрашенных по Gram'y, совершенно необычная флора (см. рис. № 1): среди гнойных элементов расположены сегментированные нити, состоящие из коротких, палочек, красящихся по Gram'y, не красящихся по Ziehl'ю, при окраске по Neisser'y не дающих нейссеровской зернистости. При тщательном просматривании препаратов, с трудом удается найти более длинные палочки с боковыми ответвлениями и коккообразные элементы. Изредка встречается лучистое расположение палочек (см. рис. № 2). Рост на обычных питательных средах отсутствовал и при сопоставлении с бактериоскопической картиной мазка из гноя, было заподозрено грибковое заболевание. Нужно отметить, что в гное друз не было. Вновь сделаны посевы на жидкие и твердые среды с 1% глюкозой, при чем часть материала засеяна аэробно, другая часть в аппаратах Омелянского. По истечении 7-ми дневного роста в термостате, рост в аэробных условиях отсутствовал; в условиях же анаэробиоза, на сахарном агаре отмечаются 3 полупрозрачные колонии, довольно нежные, величиной примерно с однодневную тифозную колонию, плотно сидящие на питательной среде В мазках из колонии короткие, сегментированные нити, оправдывающие название *Streptothrix* (цепочечный), с едва выраженным ветвлением, положительные по Gram'y, отрицательные по Ziehl'ю. Дальнейшие пересевы не удались, а потому полностью грибок не был обследован.

Больному произведена резекция ребер и перикард был дренирован. В посевах крови возбудитель не найден. После временного улучшения больной через 2 месяца погиб и так как вскрытие было неполное, то так и не удалось установить в каком состоянии были плевра и легкие и где были входные ворота инфекции.

II случай. В первых числах ноября 1929 г. в лабораторию при Центр. Комм. Поликл. была направлена больная Н. 18-ти лет (дом-работница по профессии, недавно приехавшая из деревни) для производства р. Wassermann'a. За 2 недели до этого девушка заметила в области шеи опухоль, стеснявшую движения головы. Опухоль быстро увеличивалась, не вызывая болезненных ощущений.

При ощупывании отмечается очень твердый инфильтрат, спаянный в глубине с подлежащими частями; регионарные железы не увеличены, кожа, вначале неизмененная, с течением времени приняла сине-багровый оттенок, подвижна. Опухоль, вначале прощупывавшаяся слева в глубине, постепенно продвинулась к средней линии шеи. Уже впоследствии, когда больная была помещена в б-цу Боткина, удалось установить маленькое обстоятельство, выясняющее возможные входные ворота инфекции, а именно: приблизительно за неделю до заболевания, девушка слегка подавилась сухой воблой. Небольшая болезненность в пищеводе ощущалась в течение $1^1/_2 - 2$ час., после чего больная совершенно забыла о неприятном происшествии и вспомнила о нем только при настойчивых расспросах о возможных травмах, предшествовавших заболеванию. Нужно добавить, что общее состояние больной прекрасное, температура нормальная, работоспособна.

Р. Wassermann'a дал отрицательный результат и больная была показана нескольким хирургам, дававшим различные заключения: перихондрит, нагноившаяся врожденная киста; но так как опухоль давала картину холодного абсцесса, то большинство все-таки склонялось к туберкулезному поражению верхней шейной области.

Ведение больной поручено И. Линденбауму, демонстрировавшему ее в Пироговском О-ве 1 января 1930 г.

Приблизительно через 3 недели от начала заболевания опухоль достигла значительных размеров, стала больше беспокоить больную. Когда наметился фокус размягчения, д-р Линденбаум сделал пробную пункцию, при чем на кончике иглы получил капельку кровянистого гноя, из которого были сделаны посевы на бульон и агар и мазки, окрашенные по Gram'y и Ziehl'ю.

Через 24 ч. рост отсутствует, а в препаратах в скудном количестве найдено следующее (см. рис. № 3): короткие, веретенообразные палочки, большей частью Gram-позитивные, частью Gram-негативные, мельчайшие кокки и изредка обрывки тонких нитей, не ветвящиеся, напоминавшие обрывки фибрина. По Ziehl'ю все элементы не красились. Первое впечатление, что гной инфецирован разнообразными микроорганизмами, быстро сменилось прочной уверенностью, что природа заболевания грибкового характера. Не ожидая результатов посева, больной сразу

I случай. Гнойный перикардит.

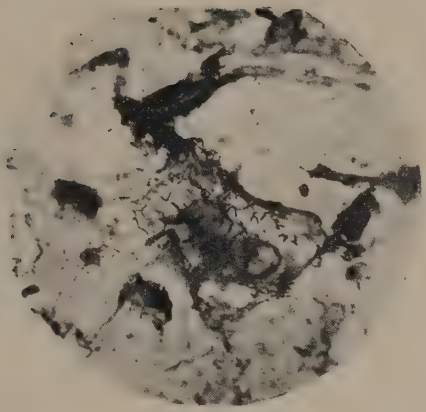


Рис. 1. Препарат из гноя. Палочковые формы

Рис. 2. Лучистое расположение элементов грибка.

II случай. Стрептотрихоз шеи.

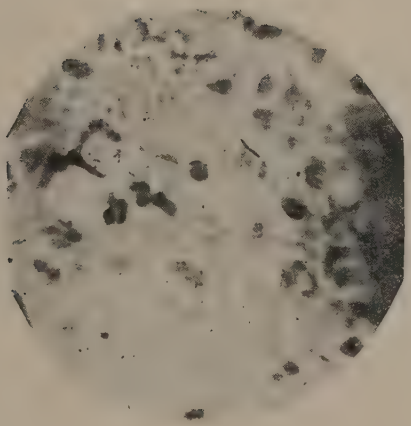


Рис. 3. Препарат, полученный при пункции инфильтрата. Короткие, Gram — позитивные, веретенообразные палочки. Коккообразные формы.

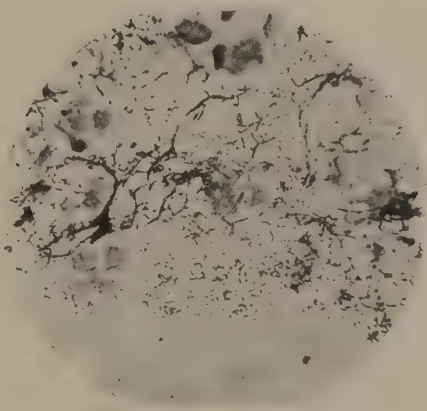


Рис. 4. Препарат из гноя. Мицелий грибка. Коккообразные и палочковые формы.

был назначен иодистый калий в возрастающих дозах (начиная с 2,0 в день). После первых дней приема иода опухоль с поразительной быстротой стала размягчаться и через несколько дней абцесс самопроизвольно вскрылся маленьким отверстием по средней линии шеи. Отделяемое обильное, кровянисто-гнойное, с неприятным запахом, особенно тяготившем больную. Девушка помещена в барачную б-цу им. С. П. Боткина под наблюдение А. Ругевич.

Через 2 недели без хирургического вмешательства, под влиянием только внутренних приемов иодистого калия, больная выписалась вполне здоровой с крошечным едва заметным рубчиком на месте вскрытия абсцесса. Иодистая терапия продолжена на дому в течение месяца.

Так как первый посев гноя был сделан в аэробных условиях, то, по поступлении больной в б-цу Боткина, гнойное отделяемое вторично засеяно аэробно и анаэробно на Sabouraud, на сахарный бульон, на 4% мальтозу и 4% глюкозу. Одновременно вторично сделаны препараты из гноя, давшие совершенно другую картину, чем в первый раз (см. рис. № 4). В мазках обнаружено пышное разрастание мицелия грибка, с характерным для группы актиномицетов истинным ветвлением; наряду с ветвящимися нитями масса фрагментов грибка Gram-положительных и Gram-отрицательных и кокковые формы. По Ziehl'ю все элементы не красятся. При внимательном осмотре гноя друз не обнаружено.

Если по первому препарату, полученному при пункции инфильтрата, диагноз поставить было крайне трудно, то II-ой препарат не оставлял сомнений в том, что мы имеем дело с грибковым заболеванием из группы актиномикоза.

Через 5 дней роста в термостате в анаэробных условиях обнаружен рост грибка в сахарном бульоне, на средах столбиком и едва заметный рост, в виде незначительных возвышений, на поверхности твердых агаровых сред.

Бульон за все время наблюдения оставался прозрачным, на дне зернистый очень характерный осадок; более крупные зернышки имеют слегка сероватый оттенок; в мазках из бульонной культуры Gram-позитивные короткие палочки, не ветвящиеся.

После месячного роста колонии на поверхности плотных сред имеют вид маленьких пуговчатых возвышений желтоватого оттенка, легко снимаются с агара; в мазках короткие нити со слабо выраженной наклонностью к ветвлению. Прививка морской свинке дала отрицательный результат.

Суммируя вышеизложенные признаки, мы полученную нами культуру должны отнести к анаэробным видам группы актиномицетов.

Заболевание же в обоих описанных случаях, согласно наиболее распространенной номенклатуре, названо нами *стрептотрихозом*

Термин „стрептотрихоз" не получил общего признания, т. к. вызывающий его грибок *Streptothrix* не характеризует собою какой-либо особый вид, родственный группе актиномицетов. Назва-

ние *Streptothrix* было впервые дано Corda в 1839 г. и Cohn'ом в 1875 г. для разного рода микроорганизмов. Название *Streptothrix*, данное Cohn'ом грибку, выделенному Förster'ом из слезного канала, удержалось в литературе и, как правило, применяется для грибка, высеянного из патологических продуктов при заболеваниях, протекающих как актиномикоз, но без образования характерных для актиномикоза друз в тканях пораженного человека и животных.

Lieske, один из крупнейших авторитетов в области грибковых заболеваний, считает, что присутствие или отсутствие друз в животном организме не есть признак особого класса грибков, а, повидимому, зависит от своеобразной реакции макроорганизма. Поэтому с точки зрения систематики грибков, он возражает против выделения группы „стрептотрихозов", настаивая на сохранении одного термина „актиномикоз".

Обилие же разнообразных признаков, как аэробиоз, анаэробиоз, существование коротких и длинных форм, пигментообразование, различное отношение к окраске по Ziehl'ю и т. д. и т. д., есть проявление громадной полиморфности и вариабильности группы актиномицетов, как видов патогенных, так и сапрофитов, широко распространенных во внешней среде. Lieske признает практически удобным деление на 2 группы: I—Аэробный тип Bostroem'a и II—Анаэробный тип Wolf-Israël'я.

Из русских авторов Шукевич считает, что образование друз зависит и от природы грибка и от условий его развития в организме и только друзообразующие формы называет актиномикозом; для форм без друз он применяет термин, который впервые был предложен у нас в России Берестневым в его прекрасной монографии „Актиномикоз и его возбудители". Берестнев предложил название „нетипический актиномикоз", описывая один случай летально окончившейся бронхо-пневмонии, вызванной грибком из группы актиномицетов без друз в гною. Этот грибок красился по Ziehl'ю, рос в аэробных условиях. Термин „нетипический актиномикоз" очень принят в русской литературе.

В заграничной литературе имеется обширный материал, но в смысле номенклатуры нет определенной системы и мы видим массу названий для одного и того же вида грибков (*Cladothr. asteroid.* Eppinger'a, *Actinomyces*, *Streptothrix*, *Nocardia*, *Oospora*. *Discomyces*, *Oidium*, *Mycetoma* и др.). Plaut в 1920 году описал 3 случая заболевания, вызванного строго анаэробным грибком без друзообразования в гное. Plaut настаивает на сохранении термина „стрептотрихоз", считая, что, кроме отсутствия друз в патологических продуктах, стрептотрихоз отличается более доброкачественным течением чем актиномикоз. Грибок Plaut'a — анаэроб, давал короткие формы на бульоне, не красился по Ziehl'ю и почти не рос на поверхности твердых питательных сред. Описанный нами грибок из группы *Actinomyces* по своим свойствам совершенно соответствует грибку, выделенному Plaut'ом.

У нас в России, кроме Берестнева описаны случаи стрептотрихоза у Нещадименко, в совместной работе Гессе,

Эберта, и Городковой, и у Рождественской в б-це им. Нечаева. Анаэроб выделен у Нещадименко.

Мы считаем целесообразным сохранить, может быть не вполне правильный термин „стрептотрихоз", не для характеристики возбудителя, а для того, чтобы фиксировать внимание клиницистов и в частности хирургов, на заболеваниях актиномикозного характера без наличия друз в патологических продуктах. В то время как наличие друз в гное ставит безошибочный диагноз актиномикоза, стрептотрихейные заболевания могут быть пропущены, так как требуют специального и тщательного бактериологического анализа.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Lieske. Handb. d. path. Mikroorg. Bd. V. Lief. 7. 2. Берестнев. Москва. 1897 г. 3. Шукевич. Руководство по бактериологии Тарасевича. 1913 г. 4. Eppinger. Beitr. z. patholog. Anat. u. allg. Path. 1890 г. 5. Plaut. C. f. B. Bd. 84, 1920 г. 6. Эберт и Городкова. Труды 8-го Съезда Бактериолог. 1925 г. 7. Златогоров. Учение о микроорган. т. III, ч. II, вып. III. 8. Heim. Lehrb. d. Bakteriologie.

Из Бактериол. Ииститута имени Пастера. Ленинград.

Мышиная парша у человека.

Ф. С. Гриф и М. М. Иткин.

Хотя Sabouraud в 1910 году в своем труде „*Les teignes*“ писал: „наличие *Achorion'a* животного происхождения у человека настолько редко, что его можно считать научным курьезом“, все же за последние годы в иностранной литературе было описано достаточно много случаев животной парши, главным образом *Achorion Quinckeanum*, у человека (Wandel, Fischer, Plaut, Chajes, Solltmann, Greenbaum, Bussolai, Luigi, Truffi Mario, Horowitz, Werther, Kummer, Mac Leod и др.) В доступной же нам русской литературе мы встретили упоминание о мышиной парше у человека всего лишь один раз (Кашкин). Если же считать, что парша гладкой кожи, без поражения волосистой части головы, вызывается главным образом *Achorion Quinckeanum*, то такие случаи изредка демонстрировались в разных русских Дермотологических Обществах (Ландесман, Гукевич). Нет сомнения в том, что мышиная парша у человека диагностицировалась бы гораздо чаще, если бы все случаи микозов кожи обследовались культурально, ибо клиническая картина мышиной парши у человека часто настолько нетипична и непостоянна, что не дает опорных моментов для диагноза.

Скутулообразование — единственный надежный клинический симптом — большею частью скудное или совершенно отсутствует. На такую нетипичность и вариабильность клинической картины мышиного фавуса указывают Bloch, Bodin, Fischer, Keller, Solltmann и др. Fischer из 16 наблюдавшихся им случаев мышиной парши у человека только в двух случаях наблюдал скутулообразование, а остальные имели очень поверхностные воспалительные явления. Он полагает, что трихофитоидная форма мышиной парши — преобладающая и что вариабильность клинической картины зависит от индивидуальных особенностей инфицирующего штамма. Другой важной клинической особенностью мышиной парши считается ее свойство останавливаться на границе волоса и не переходить на волосистую часть головы (Wandel, Solltmann, Plaut и др.) Случаи, когда мышиная парша локализируется и на волосистой части головы, по Solltmann'y относятся к величайшим редкостям. Таких случаев в доступной нам литературе встретилось всего три (Wandel, Fischer, Plaut), но и при поражениях волосистой части головы грибок, большею частью, щадит волос и не имеет большой тенденции проникнуть во внутрь его, хотя по взаимному расположению скутула и волос находятся в тесном соприкосновении друг с другом. Так, в случае Wandel'я, наблюдавшего одновременное поражение волосистой части головы и кожи чело-

века *Achorion Quinckeanum*, не всегда были свободны от грибка пушковые волосы, сидящие в середине скутулы, но это производило на него такое впечатление, что „элементы грибка прикреплены к волосу лишь снаружи". В случае Fischer'a волосы были совершенно свободны от грибка и только у Plaut'a, наблюдавшего мышиную паршу у мальчика, находившегося в скверных гигиенических условиях, заболевание сопровождалось образованием гигантских скутул и поражением волос, не отличавшихся в этом случае от обычных фавозных волос. Следует отметить чрезвычайно доброкачественное течение всех этих трех случаев и их быстрое излечение под влиянием антипаразитарной терапии, что редко бывает при поражении волосистой части головы грибком *Schönleini*.

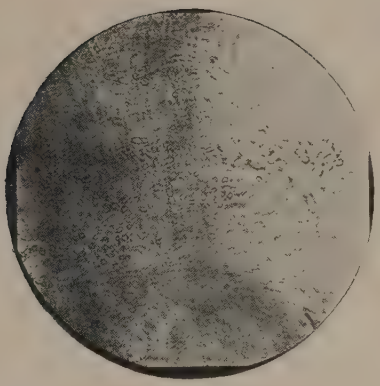
Нами за сравнительно короткий период времени наблюдалось 3 случая мышиной парши у человека, из которых один, нам казалось, заслуживает особенного внимания, ибо он сопровождался одновременным поражением гладкой кожи и волосистой части головы.

18/IX 1928 года в амбулаторию II П.О.З.Д. на прием явился ученик 34 школы Георгий К. 11 лет. Точных анамнестических данных о давности существования сыпи на теле получить не удалось. При осмотре на пояснице, животе и сгибательной поверхности одного предплечья были обнаружены три бляшки, величиною от 20-ти копеечной монеты до полтинника, несколько инфильтрированные, с резкой воспалительной окраской по периферии, с беловатыми, очень тонкими корочками в центре. Окраска этих элементов отличалась некоторым своеобразием: она была меднокрасного цвета, с небольшим оттенком цианотичности. С первого взгляда бляшка напоминала собою „*Parapsoriasis en plaques*". Больной жаловался на зуд, сильно расчесывал кожу, так что часть изменений была вторичного характера. Ему было назначено антипаразитарное лечение: *Ung. Hg. pp. albi* 5%. При повторном посещении 6/X у больного был обнаружен на голове, в передней части теменной области один очаг, величиной с 20-копеечную монету, резко ограниченный, но без всякого инфильтрата и без особых воспалительных явлений, покрытый тонкими жирноватыми корочками, беловато-желтоватого цвета. Волосы макроскопически казались неизмененными, хотя они часто сидели в центре корочки и были в весьма тесном соприкосновении с ней.

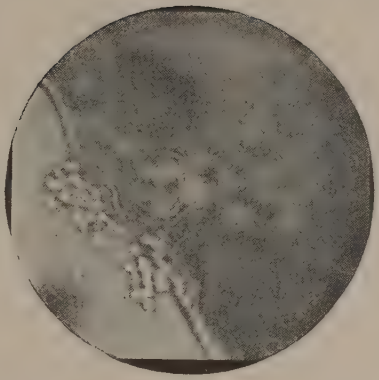
При микроскопическом исследовании чешуек и корочек с гладкой кожи и волосистой части головы и волос оказалось, что в чешуйках и корочках имеется довольно много тонкого прямого мицелия и небольшие группы круглых спор, не совсем одинаковой величины, которые изредка лежали, в виде цепочек; волосы часто были облеплены корочками и представлялись под микроскопом после обработки их 30% *KOH*, окутанными сплетением довольно тонкого мицелия, среди которого находились группы спор (фот. № 1 и 2). Это производило впечатление, что элементы грибка, находящиеся на волосе, исходят от прилепившихся к нему корочек и местами как будто проникают внутрь самого волоса, ибо волосы, не облепленные чешуйками, не имели грибковых элементов. Были получены культуры отдельно, как с элементов гладкой кожи, так и с элементов волосистой части головы. Посев производился обычным способом и обработкой посевного материала дезинфицирующими веществами, во избежание сильного загрязнения культуры. Первый посев был произведен на мальтозу-агар Sabouraud и выращивание производилось в термостате при температуре 37° С, но после того, как полученная культура через некоторое время дала розовый пигмент, диффундирующий в среду, что навело на мысль об *Achorium Quinckeanum*, был вновь предпринят посев исходного материала, с целью более детального изучения получен-

ной культуры. Материал засевался на мальтоза-агар Sabouraud, 4% пептон-агар и впоследствии также на среду с медом и выращивался при температурах 37°, 26° С и комнатной температуре. Независимо от температуры и среды, рост происходил довольно быстро. Уже на 2—4 день на поверхности среды на месте посева обнаруживалась белая, пушистая колония, возвышающаяся над средой, в виде пуговицы, в дальнейшем культура росла очень быстро, и при пересеве в колбу Виноградского через 4 недели оставалась только узкая каемка питательной среды. Через 5—8 дней роста в центре колонии обычно образовывалось углубление, от которого шли тонкие радиальные бороздки, а к концу второй недели ясно обозначалось складкообразование на поверхности. Пушок, особенно ясно выраженный в начале роста, с возрастом культуры становился ниже и делался менее заметным. Пигментообразование наступало сравнительно быстро — через 3-4 недели после посева; некоторые же культуры и совсем не дали пигмента. Обычно более интенсивно были сохранены те колонии, которые находились ближе к открытому концу пробирки (больший доступ кислорода воздуха?). Пигмент диффундировал в среду и на задней поверхности пробирки среда имела вишнево-буроватый оттенок. К моменту пигментообразования замечался рост культуры в глубину и значительное снижение пушка. Те пробирки, которые не дали пигмента, имели более высокий пушок. При постарении на поверхности культур появлялись трещины и они имели высохший вид (фотограмма № 6).

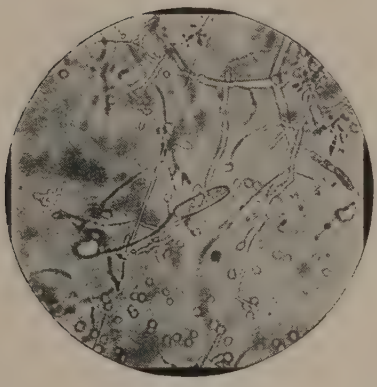
При микроскопическом исследовании культур с твердых сред картина получалась довольно однообразная и напоминала таковую при трихофитиях и микроспориях. В препарате, обычно, виден довольно тонкий мицелий, густо переплетенный, со значительным количеством эктоспор, как диссиминированных, так и сидящих, прикрепленных в ряд на ножках, в виде колоса или кисти винограда. Многокамерных веретен долго не удавалось обнаружить и только по истечении 6 месяцев от начала изучения культуры, в одной из пробирок, как раз не давшей пигмента, удалось найти веретена и то в незначительном количестве. В дальнейшем единичные веретенообразные споры встречались и в культурах пигментированных (Фотограмма № 3). Это вполне согласно с данными Fischer'a, который указывает на то, что пигмент образуется в тех культурах, где мало веретен. В дальнейшем было предпринято изучение роста культур в висячей капле, где мы получили картину, вполне сходную с описанием таковой у Solltmann'a („*Ueber Mäusefavus beim Menschen*"). Уже через сутки после посева можно было макроскопически видеть рост во все стороны от положенного кусочка культуры. Под микроскопом картина была очень красива и разнообразна и вкратце она состояла в следующем: наряду с многочисленными эктоспорами, большей частью сидящими в ряд на коротких ножках на нитях мицелия или просто прикрепленными к мицелию, можно было встретить уже единичные многокамерные веретена, прикрепленные к воздушному мицелию. Через 2 — 3 суток количество многокамерных веретен значительно увеличивалось, они были разной формы и величины и имели от двух



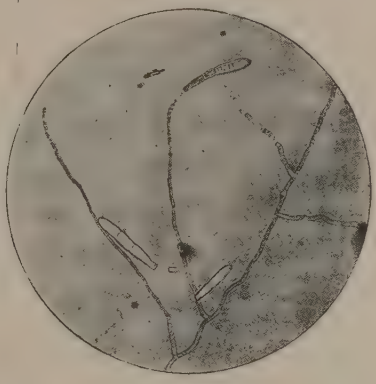
Фот. 1.



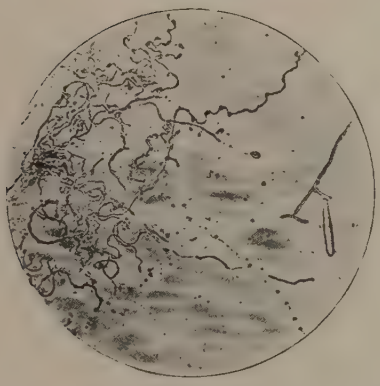
Фот. 2.



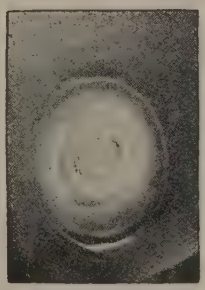
Фот. 3.



Фот. 4.



Фот. 5.



Фот. 6.

Фот. № 1. Волос, покрытый мицелием *Ach. Quinckeanum*, исходящим из приставшей к нему корочки. Фот. № 2. Волос с прилепившейся к нему корочкой; мицелий, как будто, проникает внутрь волоса. Фот. № 3. Микроскопическая картина культуры со среды Sabouraud. Фот. № 4. 3-х суточная культура *Ach. Quinckeanum* в висячей капле в бульоне с мальтозой. Фот. № 5. 3-х суточная культура *Ach. Quinckeanum* в висячей капле в бульоне с мальтозой. Фот. № 6. Культура *Ach. Quinckeanum* 5-месячной давности на среде Sabouraud.

до семи камер, разделенных отчетливо выступающими перегородками. Большая часть веретен была прикреплена к нитям мицелия и к его боковым ветвям, иногда по 2 — 3 на одной ветви. Часть веретен лежала свободно. Мицелий был то прямой, то сильно извилистый (фотограммы № 4 и № 5) и показывал ясную перегородчатость. Довольно много было также веточек с эктоспорами, но все же меньше, чем веретен. Чем старее культура, тем больше веретен лежало отпавшими от своих ветвей и тем больше было свободных рассеянных эктоспор. Эктоспоры были не всегда правильной круглой формы, часть из них были овальными. Висячую каплю можно было наблюдать, приблизительно, в течение недели, затем наступал распад элементов и уже трудно было что нибудь разобрать.

С целью окончательного подтверждения того, что мы действительно имеем дело с животной паршей, мы параллельно с изучением культуры предприняли прививки на животных. Экспериментам подвергались 2 свинки, 1 кролик и 1 белая мышь.

При заражении всех животных применялась методика по Bloch'y и Massini, состоящая в следующем: на спине, в межлопаточной области, коротко выстригался участок, величиною с 5-копеечную монету; кусочек культуры предварительно растирался между двумя лоскутками наждачной бумаги и одним из них втирался в выстриженную кожу до легкой гиперемии. Для верности мы еще накладывали небольшой кусочек культуры на выстриженный участок и втирали его в кожу металлическим шпаделем.

Результаты этих опытов были следующие: свинка № 560 была заражена 12/XII 1928 чистой культурой грибка, первой генерации, 40-дневной давности, выращенной на среде Sabouraud. На 6-ой день после заражения появились первые корочки, желтоватого цвета, в которых микроскопически было обнаружено много нитей мицелия и небольшие кучки спор. С этого момента процесс шел очень бурно: в следующие три дня количество корочек быстро увеличивалось и они слились в одну массивную, большую корку, желтоватого цвета, сидящую на глубоком инфильтрате, спаянном с подлежащими тканями. Корка занимала весь выстриженный участок. Инфильтрат ясно прощупывался и был очень болезненным. Корки снимались с большим трудом и оставляли после себя кровоизлияния. Общее состояние свинки было значительно нарушено: она плохо ела, была вялой и апатичной и обнаруживала повышенную чувствительность при дотрагивании к больному очагу. Под микроскопом снятые корочки представляли собою почти чистую культуру грибка: массу переплетенного, тонкого и ровного мицелия и небольшие кучки спор, почти одинаковой величины. Все эти явления нарастали от 6 до 10 дня, после чего наступила резкая перемена: корка целиком отвалилась, вместе с волосами, оставив на своем месте сильно гиперемированную, кровоточащую поверхность, возвышающуюся над окружающей кожей. Было такое впечатление, что свинка содрала ее, но по наведенным справкам в литературе оказалось, что это есть одна из основных особенностей типичного течения экспериментального фавуса у морских свинок. По Bloch'y и Massini, это именно тот момент, когда у свинки появляется иммунитет. По Stein'y, механизм такого внезапного отпадения

скутулы объясняется тем, что „пластинкой из концентрически надвигающихся масс лейкоцитов она приподнимается со своего ложа и выталкивается“ (цитировано по Solltmann'у). В последующие дни обнаженная поверхность бледнела, инфильтрат постепенно рассасывался; общее состояние свинки значительно улучшилось. 14 I 1929 года, т. е через 32 дня, когда процесс уже закончился и пораженный очаг начал покрываться волосами, мы предприняли новое заражение 13-дневной культурой того же самого грибка, на 3 сантиметра дальше от первого очага, с целью проверить наличие иммунитета. Результат прививки оказался отрицательным. Через 5 месяцев и 8 дней после первого заражения (к этому времени от старого поражения не осталось ни следа, и кожа была покрыта густыми, совершенно здоровыми волосами) мы снова подвергли свинку заражению на месте первой прививки. Результат получился несколько неожиданным — в то время, как, по наблюдениям Bloch'a и Massini, свинки сохраняли иммунитет до 1 ½ лет, наша свинка заболела вновь, т. е. на 3-ий день после заражения получилось покраснение, на 5-ый день первые корочки. В дальнейшем клиническая картина повторила все стадии развития, как и при первом заражении, только в более вялой форме. Общей реакции у свинки не замечалось. Слившиеся вместе корочки отпали не все сразу, а частями. Снятие оставшихся корочек было очень болезненно и оставляло после себя кровоточащую поверхность. Вместе с корочками удалялись целые конгломераты волос. При микроскопировании в корочках обнаруживалось много нитей мицелия и кучки спор. Как при первом, так и при вторичном заражении волоса были свободны от грибка. В том и в другом случае были получены ретрокультуры, вполне сходные с инфецирующим штаммом, только они слабо образовывали пигмент, но зато имели больше веретенообразных спор. Затем были заражены одновременно свинка № 1216, кролик № 275 и белая мышь культурой, полученной из исходного материала, предварительно обработанного 2%-ным формалином. Животные остались здоровы. Возможно, что тут была какая нибудь погрешность в технике заражения или же культура потеряла свою патогенность, вследствие действия формалина, ибо при повторном заражении этих животных исходной культурой, не обработанной дезинфецирующими веществами, 2½ месячной давности, свинка и кролик заболели. Прививка на мыши и на сей раз не удалась. Клиническая картина, полученная при заражении свинки № 1216, была менее сильно выражена, чем у свинки № 560. Получившиеся корочки сидели на неглубоком, но болезненном инфильтрате, по снятии их оставалась кровоточащая поверхность. Микроскопически в корочках был найден мицелий и небольшие группы спор. Общее состояние свинки было мало нарушено. Что же касается кролика, то у него процесс был совсем поверхностным: инфильтрат отсутствовал, на месте прививки было несколько отдельных очагов, покрытых мелкими, с булавочную головку величиной, тонкими корочками, округлой формы, беловатого цвета, при микроскопировании которых был найден тонкий, густо переплетенный мицелий, говоривший о заражении. Снятие корочек

было весьма болезненно, после него обнажалась сильно гиперемированная поверхность. Волосы были свободны от грибка. Посевы корсчек, как со свинки № 1216, так и с кролика № 275, на среду Sabouraud дали культуры, которые макро- и микроскопически были вполне сходны с исходным штаммом.

Таким образом, почти полное сходство полученных нами культур с культурой *Achorion Quinckeanum*, описанной Plaut'ом, Sollt-mann'ом, Bodin'ом и др. авторами, а также полная аналогия клинической картины у свинок, особенно у свинки № 560, с таковой у свинок, зараженных мышиной паршей в опытах Bloch'a и Massini, дает нам право сделать заключение, что у нашего больного дерматомикоз как гладкой кожи, так и волосистой части головы был вызван грибком Quincke. За это говорило также благоприятное течение процесса на волосистой части головы. После однократной ручной эпиляции волос на пораженном очаге быстро, так же как и на коже, произошло излечение под влиянием примененной *Ung. pp. albi* 5% и смазывания иодной настойкой. 22/X, т.-е. меньше, чем через $1^1/_2$ месяца, больной закончил лечение и при неоднократно повторном анализе волос и чешуек грибок не обнаруживался.

Приблизительно в то же время из кожных чешуек и корочек, доставленных в Институт имени Пастера для исследования (клиническая картина данного случая, к сожалению, неизвестна нам, так как больной в лабораторию не явился) была выделена вторая культура, которая по особенности роста на разных питательных средах и в висячей капле почти ничем не отличалась от предыдущего штамма *Achorion Quinckeanum*. Единственным отличием ее было то, что она ни при каких условиях роста не давала пигмента, а оставалась белой, пушистой и, пожалуй, еще образовывала меньшую складчатость при росте на колбах Виноградского, чем предыдущий штамм. Предпринятая прививка на свинке № 2364 по способу Bloch'a и Massini, дала картину, вполне убедившую нас в том, что и в данном случае мы имеем дело с мышиной паршей. Уже на 5-ый день после прививки в центре привитого очага можно было обнаружить небольшой инфильтрат с незначительным количеством чешуек на поверхности и с гиперемированной кожей в окружности. В последующие дни инфильтрат становился глубже, гиперемия усиливалась, привитой очаг покрылся желтовато-серовато-ватыми корками, слившимися вместе и имевшими местами форму типичных скутул, величиною с большую горошину. Дотрагивание до зараженного очага было чрезвычайно болезненно. Общее состояние свинки было сильно нарушено. При микроскопическом исследовании снятых корочек и волос, торчащих в центре их, уже начиная с 6-го дня после заражения, можно было видеть следующую картину: корочки представляли собой почти чистую культуру грибка, элементы которого часто переходили, в виде густого сплетениия на волос, который находился в весьма тесном взаимоотношении со скутулой; иногда на протяжении волоса, в местах, свободных от скутул, можно было также найти небольшие обрывки мицелия и группу спор и было такое впечатление, что в данном месте элементы

грибка проникли внутрь волоса. На 10-й день после заражения половина скутулы отвалилась вместе с волосами, оставив после себя сильно кровоточащую, возвышающуюся над окружающей средой поверхность, остальная половина массивной корки приподнялась над своим ложем, но не была еще окончательно отогнута. Общее состояние свинки в этот момент было сильно нарушено. В следующие дни отвалилась почти вся остальная корка, оставив небольшую скутулу на периферии привитого очага, которая держалась еще несколько дней. Обнаженная поверхность постепенно бледнела, инфильтрат рассасывался, общее состояние свинки с каждым днем улучшалось. Со снятых корок была получена ретрокультура, имевшая все особенности привитого штамма.

Третий случай мышиной парши мы получили с кожного поражения у ученика 44 Школы, Дмитрия Е., 11 лет, который 8/IV 1929 года был направлен школьным врачом в амбулаторию II П. О. З. Д. по поводу трихофитоидной бляшки на тыльной поверхности левой кисти, величиной с полтинник. Во всей клинической картине данного поражения не было ничего такого, что отличало бы ее от обычной трихофитии кожи. При микроскопическом исследовании элементов, снятых с больного очага, обнаружено было колоссальное количество густо переплетенного мицелия, частью в виде довольно тонких нитей, частью в виде цепочек из спор, а также отдельных групп спор. При посеве на Sabouraud уже на 3-й день, при комнатной температуре, появился рост, в виде белого, пушистого пуговчатого образования. В дальнейшем культура росла очень быстро и напоминала по своему виду вышеописанные нами культуры *Achorion Quinckeanum*. К концу месяца появился слабо-розовый пигмент. При пересеве этой культуры на разные питательные среды — *milieu d'épreuve* Sabouraud, 4% пептон-агар, среду с медом и росте при температуре 25—26°C пигмент появился только на среде с медом, при чем появился много раньше и был значительно интенсивнее, чем в исходной культуре, на среде Saboureaud. Микроскопическая картина культур как с твердых сред, так и в висячей капле была вполне характерна для этого грибка: много многокамерных веретен, особенно при росте в висячей капле, эктоспор как свободных, так и прикрепленных к ветвям мицелия и т. д. Прививка свинке № 2314 первичной культуры двухмесячной давности со среды Sabouraud дала вполне аналогичную картину с предыдущей свинкой (№ 2364), что окончательно подтвердило наперед установленный нами вид грибка.

Наблюдавшиеся нами в сравнительно небольшой промежуток времени, приблизительно в течение года, 3 случая мышиной парши у человека дает нам право сделать заключение, что в настоящий момент в Ленинграде этот грибок не так уж редок и весьма возможно, что он открывался бы еще чаще, если бы все случаи дерматомикозов исследовались культурально, а в неясных случаях и экспериментально на животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bloch u. Massini, Zeitschr. für Hyg. Bd. 63, 1903 г. 2. Bodin, Реф. из Русск. ж. кожн, и венер. бол. Т. VII. Янв. 1904 г., ориг. Lancet. T. II. 1903 г. 3. Bussolai Luigi Pathologica Jg. 13 № 309 1921. Реф. из Zbl. f. Haut-und Geschlkr. Bd. 3. H. 5. 4. Chajes. Med. Klinik. № 4. 1910. 5. Fischer, Berl. kl. Woch № 49. 1913 г. 6. Fischer, Реф. из Zbl. f. Haut-u. Geschlkr. Bd. II, H 1/2. 7. Greenbaum, Sigmund S. Amer. Journ. of ophtalmology. Bd. 7, №1, 1924 г. Реф. из Zbl. f. H. u. Geschlkr. Bd 21, H 3/4. 8. Horowitz. Dermat. Gesellsch. Zbl. f. H. u. Geschlkr. Bd. VII, H. 12. 9. Keller, Haut-Klin. Freiburg, отчет, Реф. из Zbl. f. H. u. Geschlkr. Bd. 20, H 9/10. 10. Kummer. Wien. Dermat. Ges. 19/X, 1925, Zbl. f. H. u. Geschlkr. Bd 19, H 13/14. 11. Кашкин. Микроб. Журн. Т. II, вып. 2. 12. Ландесман. Дерматология за 1914 г. № 2, Демонстрация. 13. Kaufmann-Wolf, Реф. из ж. „Дерматология". Т. III. Дек. 1913. Ориг. Arch. f. Kinderheilk. Bd 62, 1913. Мгебров. Русск. Ж. кож. и вен. № 4, 1913 г. 15. Нерпина. В. Рентг. и Радиолог. Т. III. Вып. II. 1923. 16. Mac Leod. Дерматология. Т. II., август. 1913, демонстр. 17. Подвысоцкая. Дерматомикозы и их возбудители. 18. Plaut u. Grütz. Handb. der pathog. Mikroorg. Kolle u. Wasserm. Bd V, L. 7, 1927 г. 19. Rajka, Zbl. f. H. u. Geschlkr. Bd. 16, H. 5. 20. Truffi Mario, Реф. в Zbl. f. H. u. Geschlkr. Bd. 2, H. 3/4, 1921. Ориг. Pathologica Jg. 13, № 301, 1921 г. 21. Wandel, O. Deutsch. Arch. f. Kl. Med. Bd. 76, 1903. 22. Solltmann, Derm. Woch. №№ 36 и 37, 1922 г. 23. Werther. Dermat., 7/I — 1925, Реф. — Zbl. f. H. u. Geschlkr. Bd. 16, H 8/9. 24. Sabouraud. Les teignes, 1910 г. 25. Гукевич, Дерматол. Т. I, март, 1913, демонстр. 26. Kaufmann-Wolf. О грибковых заболеваниях кистей стоп, Реф. Дермат. № 6, 1914. г.

Из кафедры микробиол. Харьков. Медиц. Ин-та.

Выращивание анаэробов в изолированных пробирках и чашках Petri.

С. Миронов.

Несмотря на 68-летнюю давность, выращивание анаэробов и до сих пор является одним из актуальных вопросов микробиологической техники. Последние тома *C. B. f. Bakt.*, буквально пестрят описанием новых, простых способов. Все же выращивание анаэробов и в настоящее время доступно лишь хорошо оборудованным лабораториям и опытным рукам бактериолога. Между тем огромная роль анаэробов в патологии очевидна для каждого, да и аэробы, развиваясь в организме, в сущности приближаются к условиям анаэробного существования (Kadisch[1]). Таким образом простая методика создания анаэробных условий, доступная каждой лаборатории, имела бы значение не только для выращивания и изучения группы строгих анаэробов, но и всех патогенных видов вообще.

Все способы выращивания анаэробов можно разделить на 3 группы: 1) анаэробные условия создаются только в среде; сюда относятся также способы выращивания анаэробов при доступе воздуха; 2) анаэробные условия создаются в сосуде со средой; 3) кислород удаляется из эксикатора или иного приемника культур.

При способах первой группы анаэробы развиваются главным образом в глубине среды и лишь как исключение удается получать их рост на поверхности плотных сред (Hata[2], Kovacs[3] и друг.). Изолирование микробов с помощью способов этой группы (Burri, Vignal) очень сложно и не гарантирует от загрязнения. Понятно, что удовлетворительное разрешение столь важного вопроса, как изолирование чистых культур, может быть осуществлено только с помощью методов 2 и 3 группы, позволяющих выращивать анаэробов на поверхности твердых сред. Обычно предпочтение отдается методам 3 группы, так как анаэробы при этих условиях лучше развиваются. Худшая прорастаемость анаэробов при выращивании в изолированных чашках может зависить от быстрого подсыхания среды под влиянием щелочи (Zeissler[4]) или от недостаточного удаления кислорода, так как освобождение его средой значительно медленнее, чем когда среда помещена в большом безвоздушном пространстве (Schattenfroh[5]). Несмотря на эти недостатки, все же методика выращивания в изолированных сосудах, являясь более портативной и простой, прельщает возможностью наблюдать за развитием роста, не нарушая анаэробных условий. Способов выращивания анаэробов на поверхности твердых сред в изолированных сосудах было предложено много. Некоторые из них поражают своей простотою, другие, наоборот, сложны и требуют специального оборудования.

Нет возможности останавливаться на детальном разборе и критике каждого способа, мы ограничимся лишь общим обзором принципов, положенных в их основу.

Анаэробные условия при выращивании в изолированных сосудах осуществлялись: 1) вытеснением воздуха водородом (Kamen[6], Fuchs, Hesse и др.); 2) поглощением кислорода щелочным раствором пирогаллола (Wright, Rickards[7], Dreuw[8], Jacque[9], Ogata und Takenouchi[10], Lentz[11],

Knorr[12], Saphir[13], Löwi[14], и др.) или с *Natriumhydrosulfit* $Na_2S_2O_3$ (Kollath and Quastel[15]); 3) комбинацией замены воздуха водородом или эвакуации с поглощением кислорода раствором пирогалолла Votteler[16], Brekenfeld[17], Huntemüller[18], Möhrke[19], Габричевский и др.) или удалением кислорода по принципу Laidlaw (Smidt[20]).

В последнее время Fortner[21] был предложен биологический метод. Последний основан на свойстве аэробов поглощать кислород до последнего атома из герметично замкнутого пространства. Из среды на обычной чашке Petri стерильно вырезывается полоска шириною в 1 *см*; таким образом среда разделяется на 2 части. На одной половине в качестве поглотителя кислорода густо засеивается *B. prodigiosum*, на другой — исследуемый анаэроб. Чашка Petri заклеивается пластилином. Автору удалось выращивание всех анаэробов. Особенно интересно, что, пользуясь этом методом, Fortner[22] получил поверхностный рост *Sp. pallida, Sp. dentium, Sp. gallinarum.* Недавно Dold und Gildemeister[23] предложили специальную чашку для выращивания по способу Fortner'a. Чашка разделена на 2 части проходящим по диаметру стеклянным бордюром; это позволяет каждую половину заливать любой средой и вполне, как видно, предохраняет от возможного смешения обеих культур.

Кроме метода Fortner'a, самым простым и удобным из всех предложенных является метод Lentz'a. В чашках Lentz'a кислород удаляется щелочным раствором пирогаллола, которым пропитывается кольцо из бумажной массы. Кольцо укрепляется на крышке с помощью пластилина, которым также заклеивается после посева и чашка.

Для выращивания анаэробов в изолированных пробирках предлагались не менее многочисленные способы, но из них наиболее привлекают внимание своей простотой и оригинальностью способы Votteler'a и Rickards'a.

В 1898 г. Votteler предложил выращивать анаэробов в пробирках, опрокинутых над щелочным раствором, причем одновременно воздух в пробирке замещался водородом. Раствор пирогаллола изолировался от внешнего воздуха слоем парафинового масла. В 1904 г. Rickards, повидимому не зная о работе Votteler'a, описывает аналогичный метод, но без замены воздуха водородом.

Простой метод предложен был также Wright'ом в 1901 г. В засеянную пробирку вставляется ватка с пирогаллолом и смачивается раствором щелочи, пробирка быстро закупоривается резиновой пробкой. Хотя метод Wright'a неудобен и даже не безопасен, вследствие возможной ломки пробирок, все же он пользовался большим вниманием, чем методы Votteler'a и Rickards'a, которые совсем забыты в настоящее время.

Экспериментальная часть.

А. Выращивание анаэробов в изолированных пробирках. Так как возражением против метода Rickards'a было указание на неэкономный расход пирогаллола (Kürstein[24]), то мы решили воспользоваться слабыми растворами пирогалолла и щелочи. Для изучения интенсивности поглощения кислорода слабыми растворами указанных реактивов, мы пользовались следующей методикой. Скорость поглощения кислорода регистрировалась с помощью индикатора Riemsdijk'a: 4,5 куб. см 10% р. виноградного сахара + 0,1 куб. см раствора метиленовой синьки 0,5 на 30 куб. см дестилл. воды + 0,1 *N* раствора едкаго калия.

Кусочек стерильной марли размером в 1 кв. см пропитывался индикатором и наносился на внутреннюю стенку пробирки ближе ко дну. Серия таких пробирок емкостью каждая в 18,5 — 19 куб. см опрокидывалась над поглотительной смесью разного состава. Для каждой смеси употреблялся отдельный стаканчик. В стаканчик вливался испытуемый раствор пирогаллола, в который и погружалась пробирка горлышком вниз. Раствор пирогаллола заслаивался

осторожно парафиновым маслом так, чтобы оно не проникло в пробирку, затем через масло вливался испытуемый раствор щелочи. Опыт ставился в термостат при 37° и отмечалось время обесцвечивания индикатора. В опыте первом были испытаны в различных отношениях 6% растворы пирогаллола и *KOH*, причем общий объем смеси в каждом стаканчике был равен 5 куб. см. Для контроля служила пробирка со смесью: 0,15 куб. см 44% р. пирогаллола и 0,5 куб. см 20% раствора *KOH*, что соответствовало количеству, необходимому по рецепту Riemsdijk'a для поглощения кислорода из 20 куб. см воздуха. (*Опыт I*).

Опыт 1.

	Пирогаллол 6%	*KOH* 6%	3 ч.	4 ч.	7 ч.
	0,5	4,5	с	с	ббг
	1,0	4,0	г	б	б
	1,5	3,5	г	г	бг
	2,0	3,0	бг	б	б
	2,5	2,5	ббг	б	б
	3,0	2,0	с	с	ббг
Контроль	44% 0,15	20% 0,5	с	с	ббг

Как видно из опыта I, 1 куб. см 6% р. пирогаллола поглощает кислород из объема 20 куб. см в течение 4 часов. Таким образом на объем 100 куб. см потребуется 5 куб. см того же раствора или 0,3 сухого пирогаллола, что соответствует и даже меньше количества, указанного в рецепте Riemsdijk'a. В опыте II общее количество смеси было равно 8 куб. см. 6% раствор пирогаллола смешивалось *ana* по 4 куб. см с растворами *KOH* различной концентрации. Из этого опыта видно, что колебание концентрации щелочи в пределах 6% — 20% не влияет резко на скорость поглощения кислорода 6% р. пирогаллола. При всех указанных концентрациях щелочи индикатор обесцвечивался в течение первых 3 часов.

Опыт 2.

По 4 куб. см			
Пирогаллол	*KOH*	2 ч.	3 ч.
6%	6%	ббг	б
6%	8%	ббг	б
6%	10%	бг	б
6%	15%	бг	б
6%	20%	ббг	б

с = синий; г = голубой; бг = бело-голубой; ббг = бело-бело-голубой; б = белый.

Так как индикатор Riemsdijk'a по указанию Goerttler'a[26] не надежен и не обладает постоянством, был произведен, для проверки употребляемого нами индикатора, ряд количественных определений кислорода. Мы пользовались сконструированной нами пипеткой, позволяющей определять кислород в 1 куб. см воздуха, отсчитывая 0,002 куб. см газа. При определении кислорода в атмосферном воздухе было найдено 20,68%, что свидетельствует о достаточно точной методике.

Вот ряд определений % содержания кислорода в пробирках после поглощения его смесями разной концентрации: 1. Поглощение кислорода смесью *ana* 44% пирогаллола и 20% *KOH* при $T = +42°$. Через 2 часа индикатор белый, найдено 0,73% кислорода. 2. По-

глощение кислорода смесью *aa* 6% р. пирогаллола и 6% р. *KOH* при T = 42°. Через 2 часа индикатор бело-голубой, найдено 0,92% кислорода. 3. Поглощение кислорода смесью *aa* 5% р. пирогалолла и 5% р. *KOH* при T = 37°. Через 30 минут индикатор синий, найдено 2,01% кислорода. 4. Тоже через 2 часа индикатор бело-голубой, найдено 1,59% кислорода. Убедившись, что слабыми растворами пирогаллола и щелочи можно в течение первых 3—4 часов понижать концентрацию кислорода до десятых процента, мы попытались выращивать анаэробов. В общем мы пользовались техникой, описанной W. Votteler'ом в 1898 г. Конденсационная вода удалялась пипеткой. После посева в пробирку вводился кусочек стерильной гигроскопической ваты, которая предохраняла посев от загрязнения, а также, впитывая избыток влаги, препятствовала стеканию роста. Пробирки опрокидывались над смесью *aa* 5% растворов пирогалолла и щелочи. Потребное количество смеси определялось по емкости засеянных пробирок, оно должно быть равным $^1/_5$ суммы их емкости + некоторый избыток, необходимый в качестве изолирующего слоя. Первый опыт дал мало утешительный результат. При посеве на обычном агаре ($p_H = 7{,}6$) только *B. perfringens* дал хороший рост через 24 часа, *B. tetanus*, *B. sporogenes*, *B. oedema malig.*, *B. botulinus* развивались к 4—5 дню, а *B. putrificus* [1]) совсем не вырастал. Применение более концентрированных растворов щелочи и пирогаллола не дало лучших результатов. При посеве на гемоглобиновый агар результат был тот же. Зато при посеве на свеже приготовленный сахарно-гемоглобиновый агар все анаэробы развивались в течение 24—48 часов, но вследствие интенсивного газообразования агар вытеснялся из пробирки.

Необходимо было заменить сахар другим редуцирующим веществом, неспособным бродить. Мы остановились на железе, которое как известно, обладает восстановительными свойствами. Чтобы изучить влияние металлического железа, мы повторили опыт Hata l. c. в следующей форме.

В обычный бульон перед посевом бросался раскаленный докрасна гвоздь. При таких условиях удавалось получать рост всех вышеуказанных анаэробов, при чем лучше и быстрее развитие культуры наступало, если бульон предварительно был покрыт слоем парафинового масла. *B. perfringens* и *B. histolyticus* на бульоне с гвоздем развивались в течение 24—48 часов, остальные культуры в более поздние сроки. Интересно, что первичный рост иногда наблюдался на гвозде, в виде небольшой плотно сидящей колонии. В дальнейшем для изучения влияния различных препаратов железа мы пользовались только *B. putrificus*. На бульоне с $FeOH_3$ *B. putrificus* не развивался, на бульоне с $FeSO_4$ наблюдался рост; особенно хорошее развитие отмечалось на бульоне *FeS* и $FeCO_3$ при чем белый осадок $FeCO_3$ чернел. Нужно сказать, что $FeCO_3$ обладает резко редуцирующим свойством. Так, если добавить к ра-

[1]) Наблюдения проведены с культурами Парижского Пастеровского института, полученными нами из Харьковск. Сан.-Бак. Института. Считаю приятным долгом выразить благодарность проф. С. И. Златогорову за предоставление указанных штаммов.

створу метиленовой синьки 0,1 *N* раств. Na_2CO_3 и 0,1 *N* раств. $FeSO_4$, то вследствие реакции замещения выпадает белый осадок $FeCO_3$ при чем моментально метиленовая синька обесцвечивается. Над осевшим на дно $FeCO_3$ вся жидкость высотою в 10 см долго остается бесцветной, через 24 часа верхние слои восстанавливают окраску и над осадком остается столб бесцветной жидкости высотою 5—6 см: через 48 часов вся жидкость окрашена. Если раствор метиленовой синьки предварительно был покрыт маслом, то и через 48 часов над осадком остается бесцветный столб жидкости высотой 4—5 см.

Для приготовления твердых сред с железом мы пользовались $FeSO_4$ и $FeCO_3$. К обычному растопленному агару (подщелоченному *KOH*, а не содой), добавляли *ex tempore* на каждую пробирку 0,1—0,3—0,5—1,0 куб. см стерильного *N* раствора $FeSO_4$. Для приготовления агара с $FeCO_3$ вначале добавлялось 0,1—0,3—0,5—1,0 куб. см *N*-раствора соды, а затем соответствующие количества *N*-раствора $FeSO_4$, при этом выпадал бело-зеленоватый осадок. После смешивания осадка агар скашивался. Были засеяны 2 серии пробирок с $FeSO_4$ и с FCO_3. Первая серия выращивалась в аэробных условиях, а вторая в анаэробных над смесью 5% растворов *KOH* и пирогаллола.

Опыт 3.

	Аэробные условия						Анаэробные условия					
B. putrificus Колич.	$FeCO_3$			$FeSO_4$			$FeCO_3$			$FeSO_4$		
	12 ч.	24 ч.	48 ч.	12 ч.	24 ч.	48 ч.	12 ч.	24 ч.	48 ч.	12 ч.	24 ч.	48 ч.
0,1	—	—	⊕	—	—	—	⊕	×	××	—	—	—
0,3	—	—	⊕	—	—	—	×	××	××	—	—	—
0,5	—	—	⊕	—	—	—	×	××	××	—	—	—
1,0			⊕			—		×	××	—	—	—

— = роста нет
⊕ = следы роста
× = начало роста
×× = рост средний
⊕× = рост хорош.

Опыт III. Как видно из опыта, *B. putrificus* не развивался при доступе кислорода. В анаэробных же условиях на агаре с $FeCO_3$ рост появлялся уже через 12—24 часа, а на агаре с $FeSO_4$ роста не было. Также и остальные, имевшиеся у нас штаммы анаэробов на агаре с $FeCO_3$ при тех же условиях анаэробиоза развивались в течение 24 часов.

Таким образом агар с $FeCO_3$ был наиболее удобной и простой средой, позволявшей получать быстрый и хороший рост анаэробов, пользуясь методом Votteler'a-Rickards'a.

Возможно, что такое благоприятное действие $FeCO_3$ обусловлено не только его резко редуцирующим свойством, но и углекислотой, которая освобождается при его самоокислении. Углекислота по данным Rockwell and Higberger'a, Valley and Rettger[28] является необходимой для развития всех микробов, в том числе и для анаэробов. Rockwell[29] предлагает для выращивания анаэробов подщелачивание пирогаллола вместо *KOH* заменить следующим раствором: 0,75 NaH_2PO_4 + 50,0 $NaHCO_3$ + 500,0 *Aqu. dest.* 1 куб. см этого раствора при T = 37° и давление 760 мм

H_q освобождает 0,2 куб. см углекислоты. Автор, пользуясь методом Wright'a, наблюдал более пышный рост анаэробов при подщелачивании пирогаллола предложенной им смесью, чем при подщелачивании *KOH*. Так как приготовление агара с $FeCO_3$ все же несколько усложняло технику, мы решили изучить рост анаэробов на простом агаре при условии поглощения кислорода содовым раствором пирогаллола. Чтобы найти оптимальные количественные отношения между содой и пирогаллолом, мы вновь обратились к примененному нами ранее методу.

Опыт 4.

По 4 куб. см		6 ч.	24 ч.
Пирогаллол	Na_2CO_3		
44%	5%	с	с
22%	5%	с	с
11%	5%	с	г
5,0%	5%	с	бг
2,5%	5%	с	б
1,25%	5%	с	б
0,6%	5%	с	бг
2,5%	*KOH.* 5%	б	б
1,25%	5%	б	б

По 4 куб. см		3 ч.	19 ч.	27 ч.	33 ч.	51 ч.	96 ч.
Пирогаллол	Na_2CO_3						
44%	20%	с	с	с	с	бг	б
22%	20%	с	с	г	г	б	б
11%	20%	с	бг	ббг	б	б	б
5%	20%	с	бг	б	б	б	б
5%	10%	с	бг	б	б	б	б
5%	5%	с	с	г	бг	б	б
5%	2,5%	с	с	с	с	г	б
5%	1,25%	с	с	с	с	с	с
5%	*KOH.* 5%	ббг	б	б	б	б	б

Опыт IV. При подщелачивании пирогаллола содой кислород поглощается медленно — индикатор обесцвечивается не ранее 24 часов. Из опыта видно, что избыток пирогаллола резко задерживает поглощение кислорода. Наиболее оптимальными оказались смеси с 2—5 кратным избытком соды. Так как слабые растворы поглощали кислород так же интенсивно, как и концентрированные, то было возможно и здесь пользоваться методами Votteler'a-Rickards'a, экономно расходуя реактивы.

Смеси в пределах найденной оптимальности были испытаны в опыте выращивания *B. putrificus*.

Опыт 5.

Удаление кислорода	пирогаллол	5 куб. см 5%			5 куб. см 5%			5 куб. см 2,5%			5 куб. см 1%			5 куб. см 5%		
	Na_2CO_3	5 куб. см 10%			5 куб. см 5%			5 куб. см 5%			5 куб. см 5%			*KOH.* 5 куб. см 5%		
Время		24 ч.	48 ч.	72 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.
Рост *B. putrificus*		⊕	× ×	× × ×	×	× ×	× × ×	×	× ×	× × ×	×	× ×	× × ×	|	⊕	1 колония

Опыт V. B. putrificus, который не растет на обычном агаре при поглощении кислорода смесью пирогаллола и *KOH*, прекрасно развивается в течение 24—48 часов, если кислород поглощается содовым раствором пирогаллола. Из опыта также видно, что при-

менение слабых растворов пирогаллола и соды не уменьшает интенсивности роста *B. putrificus*. Все изученные нами анаэробы развивались при этих же условиях в течение 24 — 48 часов. Таким образом, применяя метод Votteler'a-Rickards'a, можно с успехом пользоваться слабыми растворами пирогаллола, *KOH* или соды. Это делает технику выращивания анаэробов чрезвычайно простой, дешевой и доступной каждой лаборатории.

B. Получение отдельных колоний в изолированных чашках Petri. Для получения изолированных колоний на поверхности пластинчатых сред, мы воспользовались типом чашки, предложенной Saphir'ом.

Подбирались две половинки чашки Petri одинакового диаметра и пришлифовывались мелким наждаком на гладкой стеклянной пластинке. При стерилизации между обеими половинками чашки, вкладывался листик бумаги, предохранявший шлифы от повреждения и препятствовавший присасыванию чашки. После посева шлифы слегка смазывались желтым вазелином и обе половинки чашки плотно прижимались. Для получения более или менее полной герметичности, мы пользовались широкими резиновыми кольцами, которые обхватывали чашку не только с боков, но частично сверху и снизу. Кольца нарезывались из обычной автомобильной камеры размера 28×3, они пригодны для чашек диаметром 7—10 см. Натягивание кольца легко производится при участии помощника или еще лучше с помощью станка. Станок имеет 2 плоских выступа с дистанцией в 12 см. Вначале кольцо растягивается на этих выступах, затем вставляется чашка и кольцо последовательно снимается с обоих выступов, таким образом чашка плотно зажимается в кольцо.

Чрезвычайно важным моментом для получения отдельных колоний, является удаление из чашки конденсационной воды. Обычно, для подсушивания чашки со средой оставляются в термостате на 24 часа или подсушивание производится в особых аппаратах Schurmann [30] или над $CaCl_2$ по Goerttler. Мы предлагаем следующий простой способ. Чашка перед заливкой агаром накрывается стерильным листком фильтровальной бумаги. Горячий агар выливается в чашку, а пробирка укладывается на листок, чтобы предохранить его от случайного сдувания. Как только остыл агар, на что требуется не более 20 минут, можно производить посев. Фильтровальная бумага не препятствует испарению влаг, благодаря чему поверхность агара быстро подсыхает. Что один листок фильтровальной бумаги вполне предохраняет среду от загрязнений доказывает следующий опыт.

Опыт 6.

Место нахождения чашки	Время	накрыта фильтр. бумагой	контроль открытая
на раб. столе .	4 ч.	1 кол.	31 кол.
на письм. столе	3 ч.	1 кол.	77 кол.
в зале для практ. занятий . .	4 ч.	стерильна	119 кол.

Опыт VI. Для выращивания по способу Fortner'a обе половинки чашки заливалились агаром, как указано выше. На одной

половине чашки засеивался анаэроб, на другой *B. prodigiosum* или *B. paratyphus B.* Чтобы избежить скопления конденсационной воды, посев аэроба покрывался листиком фильтровальной бумаги с вырезанным в центре круглым отверстием, это давало возможность рассматривать чашку при проходящем свете. Чашки ставились в термостат посевом анаэроба кверху (см. рис. № 7).

Для выращивания анаэробов над щелочным раствором пирогаллола, мы пользовались этими же чашками. Бумажное кольцо Lentz'a, как приемник поглотительной смеси, мы заменили полым резиновым кольцом. Обычная резиновая трубка *D* - 1 см замыкалась в кольцо с помощью короткой стеклянной трубочки, слегка изогнутой и имеющей еще 3-е боковое отверстие (см. рис. 8—9). Надвиганием резины на стеклянную трубочку можно изменять несколько диаметр кольца. Кольцо должно плотно входить в чашку. Так как при нагревании резина теряет упругость, то чашки стерилизуются с не плотно вставленными кольцами. Перед посевом кольцо плотно вставляется в одну половину чашки, а другая заливается агаром. После посева обе половины складываются так, чтобы среда находилась над кольцом. Шлифы смазываются вазелином, кольцо заполняется через боковое отверстие раствором пирогаллола и щелочи, после чего чашка быстро закрывается и обтягивается наружным резиновым кольцом. Заключение поглотительной смеси в кольцо позволяет держать чашку горизонтально и вертикально, необходимо следить только, чтобы соединительная трубочка была обращена кверху. Трубчатое кольцо совершенно исключает возможность загрязнения среды пирогаллоловой смесью. Кольцо затемняет только край чашечки не более 1 см, что позволяет легко наблюдать за развитием роста макро и микроскопически, не нарушая условий анаэробиоза.

Опыт 7.

Культуры	*B. tetani*			*B. botulinus*			*B. histolyticus*	*B. perfringens*	*B. putrificus*				
Время учета роста	12 ч.	24 ч.	48 ч.	12 ч.	24 ч.	48 ч.	24 ч.	24 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.	96 ч.	120 ч.
Индикатор	с	с	б	с	с	б	ббг	ббг					
Посев по Fortner'y в раздельном симбиозе с *B. paratyphus B.*	—	Рост хороший	Рост сплошной	Начало роста	Рост обильный	Рост обильный	Рост хороший	Рост слабый	—	Начало роста	Рост хороший	Рост хороший	Рост хороший
Индикатор	б	б	б	б	б	б	б	б					
Кислород удален смесью пирогаллол + *KOH.*	—	3 кол.	35 кол.	—	—	Отд. колонии	Рост хороший	Рост обильный	—	—	—	—	—

По видоизмененному нами способу Fortner'a все анаэробы, которыми мы пользовались, развивались в течение 24—48 часов.

Рост их, как видно из опыта VII, начинался еще при окрашенном индикаторе, т. е. при наличии более 1% кислорода. (*Опыт VII*).

В чашках с щелочным раствором пирогаллола (0,75 куб. см 44% пирогаллола+2,5 куб см. 20% *KOH*) индикатор обесцвечивался ранее 12 час., но рост был хуже, а *B. putrificus* совсем не рос.

Также величина и форма колоний были различны. При выращивании по способу Fortner'а развивались более крупные ветвистые колонии, что зависело от пролиферативно-поверхностного роста, наоборот, в чашках с пирогаллолом колонии были мельче, с ровными краями и плотным центральным ядром (рис. 1—4).

Только *B. perfringens* в чашках с пирогаллолом развивался лучше и давал колонии более крупные (рис. 7—8).

Так как при замене *KOH* содой легко удавалось выращивать *B. putrificus* на простом агаре, то мы решили применить подщелачивание содой и для выращивания в наших чашках. Ряд чашек был засеян тонкой эмульсией вегетативных форм *B. putrificus*. Для поглощения кислорода брались разные количества 44% пирогаллола и по 4 куб. см 20% соды.

Опыт 8.

Удаление O_2	пирогаллол	0,2 куб. см 44%			0,5 куб. см 44%			1 куб. см 44%		
	Na_2CO_3	4 куб. см 20%			4 куб. см 20%			4 куб. см 20%		
Время учета роста		24 ч.	48 ч.	60 ч.	24 ч.	48 ч.	60 ч.	24 ч.	48 ч.	60 ч.
Посев тонкой эмульсии вегет. форм. *B. putrificus*		—	× ×	× × ×	⊕	× × ×	× × ×	—	—	×

Вот результат *опыта VIII*. Замена *KOH* содой была вполне достаточна, чтобы устранить причины, препятствовавшие развитию *B. putrificus*. Достаточно на чашку емкостью в 100 куб. см взять 0,2 куб. см 44% раствора пирогаллола, т. е. менее 0,1 сухого пирогаллола, чтобы получить рост *B. putrificus* в течение 48 часов. Повышение количества пирогаллола улучшает рост, но уже 1 куб. см резко задерживает развитие, что зависит от замедленного поглощения кислорода при избытке пирогаллола. Таким образом, мы считаем, что на чашку, емкостью в 100 куб. см, необходимо не более 0,5 куб. см 44% раствора пирогаллола и 4 куб. см 20% раствора соды. Чтобы подвести итог вышеизложенному и дать сравнительную оценку изученным нами методам, мы произвели следующий опыт. В 1 куб. см физиологического раствора растиралась одна петля d-0,5 мм 4-х дневной культуры всех вышеуказанных анаэробов, выращенных по способу Fortner'а.

Культура *B. perfringens*, *B. putrificus*, *B. histolyticus* спор не имели, у остальных спорообразование было в начальном периоде. Одна петля этой эмульсии рассеивалась штрихами на чашках с

РИС. 1.

РИС. 3.

РИС. 5.

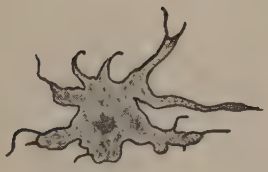


РИС. 2.

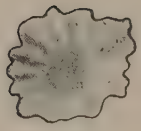


РИС. 4.

РИС. 6.

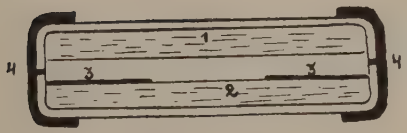


РИС 7

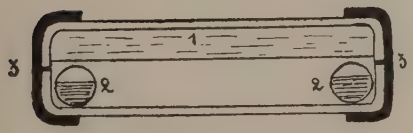


РИС 8

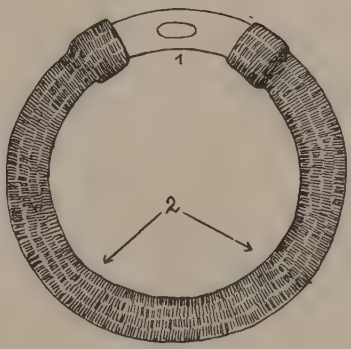


РИС. 9

простым агаром. В первой серии чашек кислород поглощался смесью: 0,5 куб. см. 44% раствора пирогаллола + 4 куб. см 20% раствора Na_2CO_3, вторая серия служила для выращивания по способу Fortner'а в раздельном симбиозе с *B. paratyphus B.*

Кроме того одна петля d=1,5 мм эмульсии была засеяна на косой простой агар: свеже-перетопленный, скошенный 3 дня назад и на агар с $FeCO_3$. Все пробирки также были разделены на 2 серии. В первой серии кислород поглощался смесью равных количеств 2,5% раств. пирогаллола и 5% р. Na_2CO_3, во второй серии—смесью 2,5% р. пирогаллола и 5% раств. *KOH.*

Для контроля был произведен обильный засев всех указанных штаммов на агар с $FeGO_3$ и оставлен в аэробных условиях. Во все пробирки и чашки были разложены кусочки марли, смоченные индикаторным раствором. Через 12—24—48 ч. учитывалось изменение цвета индикатора и регистрировался рост, интенсивность которого обозначалась крестами.

Результат опыта представлен в таблице № 9. Из этой таблицы видно, что при поглощении кислорода содовым раствором пирогаллола индикатор обесцвечивался не ранее 24 ч., а в большинстве случаев к 48 часам. Все же, несмотря на такую задержку в эвакуации кислорода, все культуры на простом агаре развивались хорошо через 48 час., только *B. perfringens* не давал и признаков роста. Наоборот, при поглощении кислорода смесью пирогаллола и *KOH,* хотя индикатор обесцвечивался ранее 12 час., только *B. perfringens* развивался в течение 12—24 ч. в то время, как остальные культуры начинали развиваться к 3-му дню, *B. putrificus* совсем не выростал. Резкой разницы в росте на старом и свеже скошенном агаре не наблюдалось.

На агаре с $FeCO_3$ в первой серии рост был таков же как и на простом агаре, во второй же серии посевов выступала резкая разница. При поглощении кислорода смесью пирогаллола и *KOH* на простом агаре рост появлялся только к 3 дню, а на агаре с $FeCO_3$ все культуры хорошо развивались к 24 часу. В аэробных условиях на этой же среде роста не было.

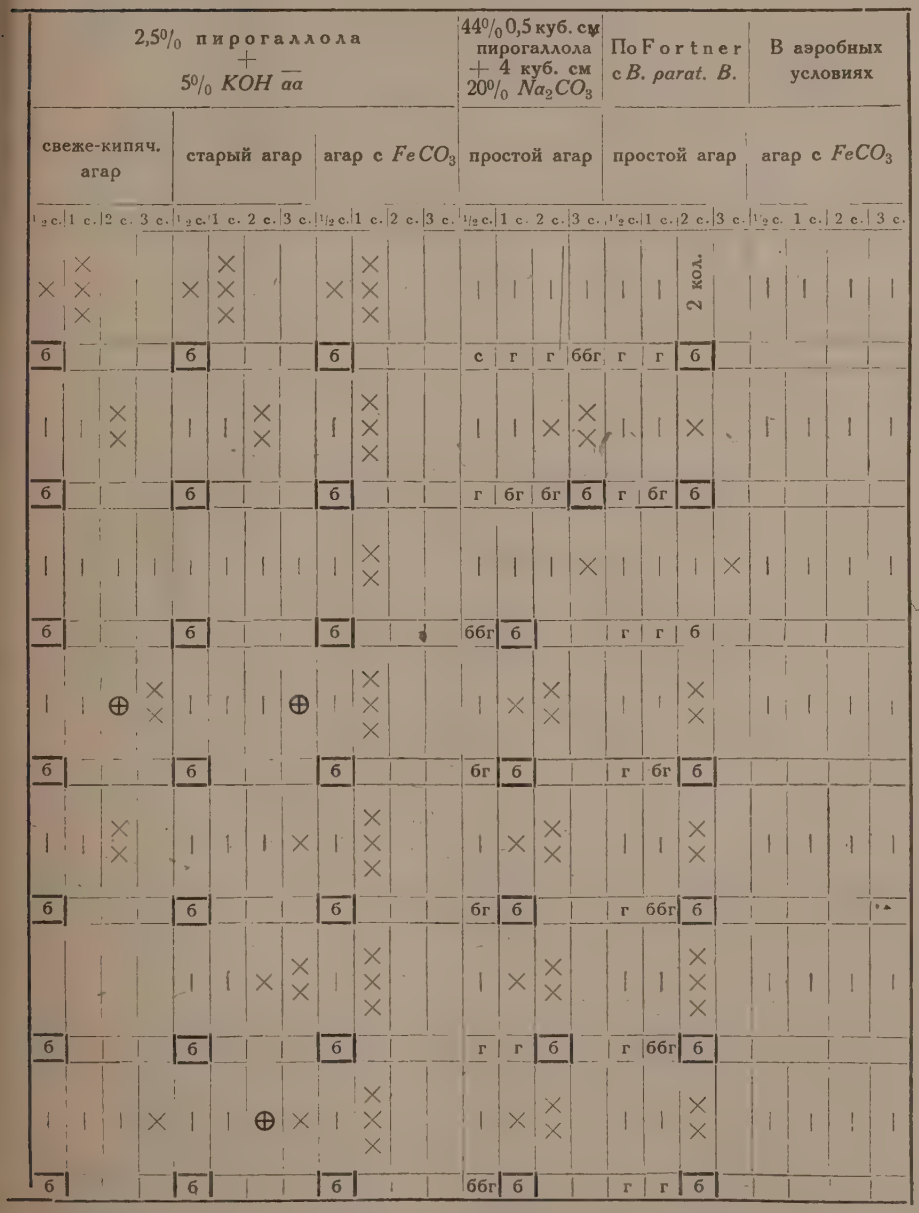
Что касается выращивания в чашках, то, как видно из таблицы, прорастаемость в обеих сериях почти одинакова, можно только отметить несколько более быстрый рост в чашках с содовым раствором пирогаллола, чем по методу Fortner'а. При просмотре результатов этого опыта, невольно привлекает внимание чрезвычайно своеобразное поведение *B. perfringens.* Раньше уже было отмечено, что *B. perfringens* лучше развивался в чашках со смесью пирогаллола и *KOH,* чем по способу Fortner'а.

На приведенной таблице резко выступает его способность развиваться только при поглощении кислорода смесью пирогаллола и *KOH.*

Произведенный проверочный опыт показал, что при обильном засеве можно получить рост *B. perfringens* и над содовым раствором пирогаллола, но при посеве тонкой эмульсии *B. perfringens* выростал только под смесью пирогаллола и *KOH.* Является ли такое поведение индивидуальной особенностью имеющегося в нашем

Условия выращивания	2,5% пирогаллола + 5% Na_2CO_3 аа											
Среды	свеже-кипяч. агар				старый агар				агар с $FeCO_3$			
время учета	½ с.	1 с.	2 с.	3 с.	½ с.	1 с.	2 с.	3 с.	½ с.	1 с.	2 с.	3 с.
B. perfringens												
индикатор	г	б			г	б			г	бг	б	
B. histolyticus		×	× ×			×	× × ×		×	×	× × ×	
индикатор	с	г	б		г	б			г	г	б	
B. putrificus				×				×			× ×	
индикатор	г	б			г	б			г	г	б	
B. tetanus			× ×				× ×				× ×	
индикатор	с	с	б		с	г	б		с	бг	б	
B. botulinus		×	× ×			×	× × ×				× × ×	
индикатор	бг	бг	б		бг	б			с	с	б	
B. sporogenes			× × ×			×	× × ×		×	×	× × ×	
индикатор	с	с	б		с	с	б		с	бг	б	
B. Oedema maligna		×	× × ×				× × ×				× × ×	
индикатор	с	бг	б		с	с	б		с	бг	б	

Табл. 9.


2,5% пирогаллола + 5% KOH aa
44% 0,5 куб. см пирогаллола + 4 куб. см 20% Na_2CO_3
По Fortner с B. parat. B.
В аэробных условиях
свеже-кипяч. агар
старый агар
агар с $FeCO_3$
простой агар
простой агар
агар с $FeCO_3$
½ с. 1 с. 2 с. 3 с.
½ с. 1 с. 2 с. 3 с.
½ с. 1 с. 2 с. 3 с.
½ с. 1 с. 2 с. 3 с.
½ с. 1 с. 2 с. 3 с.
½ с. 1 с. 2 с. 3 с.
2 кол.
б
с г г ббг г г б
г бг бг б г бг б
ббг б г г б
бг б г б
бг б г ббг б
г г б г ббг б
ббг б г б

распоряжении штамма или характерным для всего вида, в настоящее время мы не можем сказать. Во всяком случае возможно данное явление толковать двояко: или *B. perfringens* очень чувствителен к CO_2, что мало вероятно, или он является более строгим анаэробом, чем остальные изученные нами виды.

До сих пор в сущности степень анаэробизма определялась при условиях неблагоприятных для развития культур, т. е. при полном отсутствии углекислоты. Если наличие углекислоты позволяет большинству анаэробов развиваться при наличии в атмосфере более 1% кислорода, то, очевидно, степень их анаэробизма меньше той, которая за ними признавалась. Таким образом отсутствие роста *B. perfringens* можно было бы об'яснить его большой чувствительностью к кислороду. Это лишь предположение, требующее дальнейших исследований.

Во всяком случае поведение *B. perfringens* указывает с очевидностью, что ни метод Fortner'a ни метод Rockwel'a не могут считаться безусловно благоприятными для развития всех без исключения анаэробов, и что поглощение кислорода смесью пирогаллола и *KOH* в некоторых случаях может оказаться более пригодным.

ВЫВОДЫ

1. Поглощение кислорода смесями слабых растворов пирогаллола, соды и *KOH* достаточно интенсивно, чтобы выращивать строгих анаэробов.

2. Предлагаемый мною метод выращивания анаэробов в изолированных пробирках, представляет комбинацию методов Vottel-ler'a—Rickards'a и Rockwell'a и является наиболее простым, дешевым и доступным любой лаборатории.

3. Метод Fortner'a в нашей модификации также прост и дает возможность легко получать изолированные колонии анаэробов.

4. Мой метод выращивания в чашках вполне равноценен методу Fortner'a, но имеет ряд преимуществ: а) более быстрый рост, 2) отсутствие возможного загрязнения культурой аэроба, с) большая поверхность посева, д) отсутствие образования конденсационной воды, благодаря наличию крепких растворов соды и пирогаллола, е) легкость вскрытия и закупорки чашки, ж) возможность выращивания над смесью пирогаллола и *KOH* тех анаэробов, которые плохо развиваются по методу Fortner'a и каким в нашем случае был *B. perfringens*.

5. Благоприятное действие $FeCO_3$, повидимому, обусловлено не только резко редуцирующей способностью, но и освобождающейся при самоокислении углекислотой.

6. Наличие углекислоты настолько благоприятствует росту, что многие анаэробы начинают развиваться при содержании в атмосфере более 1% кислорода.

7. Очевидно нет необходимости стремиться к возможно быстрому получению абсолютного вакуума, так как анаэробы хорошо развиваются, если обесцвечивание индикатора наступает позже 24 часов.

8. Об'яснение причин худшего роста анаэробов в изолированных сосудах, данное Zeissler'ом и Schattenfroh повидимому не вскрывает истинного положения, так как худшая прорастаемость в данном случае может зависеть от более быстрого и совершенного поглощения углекислоты щелочью.

9. В заключение я хотел бы отметить, что простая методика создания анаэробных услевий должна иметь огромное значение не только для выращивания строгих анаэробов, но и всех патогенных видов вообще.

Выражаю глубокую благодарность д-ру Н. И. Свитальской за выполненные ею рисунки.

ЛИТЕРАТУРА:

1) C. Kadisch. Centr. f. Bakter. Bd 90. S. 462; 1923 г. 2) S. Hata. Centr. f. Bakt. Bd 46, S. 539; 1908 г. 3) N. Kovacs. Centr. f. Bakter. Bd 98, S. 114, 1926 г. 4) Zeissler. Hand. d. Mikr. Tech. Kraus und Uhlenhuth, Bd II; 5) Schattenfroh. Там же; 6) L. Kamen. Centr. f. Bakter. Bd 12, S. 296; 1892 г. 7) R. Rickards. Там же, Bd 36. S, 557; 1904 г. 8) Dreuw. Там же, Bd 36, S. 748, 1904 г. 9) L. Jacque. Там же; Bd 36, S. 28,1904 г. 10) M. Ogata und M. Takenouchi. Там же, Bd 73, S. 75. 1914 г. 11) O. Lentz. Там же, Bd. 53, S. 358, 1910 г. 12) Knorr. Там же, Bd 81, S. 233, 1919 г. 13) O. Saphir. Centr. f. Bakt. Or. Bd 90, S. 205, 1923 г. 14) E. Löwi. Там же, Bd 82, S. 493, 1919 г. 15) W. Kollath und J. Quastel. Там же Bd 95, S. 181. 16) W. Votteler. Zeitschr. f. Hygiene u. Inf. Bd 27, S. 480, 1898 г. 17) Brekenfeld Cent. f. Bakter. Bd 91, S. 338, 1923 г. 18) O. Huntemüller. Там же Bd 91, S. 125, 1923 г. 19) W. Möhrke. Там же Bd 98, S. 427, 1926 г. 20) I. Fortner. Cent. f. Bakter. Bd. 108 S. 155 u. Bd. 110, S. 233.21) H. Dold und Gildemeister. Там же Bd 109, S. 344. 1928 г. 22) L. Kurstein. Cent. f. Bakt. Abt. II, Bd 19, S. 1, 19, 109, 202. 1907 г. 23) Riemsdijk Cent. f. Bakter. Bd 88, H. 3. 24) N. Goerttler. Там же Bd 101, S. 156, 1927 г. 25) Rockwell and Highberger. Cent. f. Bakter. Bd 88. 26) G. Walley and Rettger. Там же Bd. 89, S, 184. 27) Rockwell. Journ. of. inf. Dis. vol. 35, № 6. 1924 г.

Из Свердловского Санитарно-Бактериол. Института.

Редкие формы бешенства и осложнения при антирабических прививках.

Л. Г. Гутман.

В данной работе приводятся два случая атипичного бешенства и осложнения при антирабических прививках, наблюдавшиеся на Пастеровской станции в Свердловске за последние 2 года. Метод лечения за это время: до июля 1928 г. — Пастеровский — 1-2-3 дневный мозг, 8—28 дней лечения, доза—1—2 мм спинного мозга. Начиная с августа 28 года — вакцина по Philips'y, 16 дней лечения, обычная норма 160—170 мг мозга: в наиболее тяжелых случаях — $1^1/_2$ доза вакцины Philips'a или добавочные прививки по Fermi в течение 8 дней (по 2 куб. 5% карболовой эмульсии).

I. Случай бешенства при явлениях менингита.

Ш. П., мальчик 6 лет, явился 2. III. 28 на прививки. 3 глубокие рваные раны на левой щеке в 2 см длины, 3 такие же раны на верхней губе. Все раны зашиты. Собака неизвестная, покусала еще 2 человек и теленка. Назначено 28 прививок по Пастеру и дополнительное лечение по Fermi. На 23-й день лечения, непосредственно после прививки — шок: обморочное состояние, слабый неравномерный пульс, под конец рвота, длится около 10 минут. Лечение прервано. Через 3 дня — высокая температура, общее тяжелое состояние. Переведен в больницу. Диагноз — менингит. Выписка из истории болезни: 30. III. Бессознательное состояние, частая рвота, резкая бледность. Ригидность затылка, феномен Kernig'a. Пульс частый, нитевидный, темп. 38,7. В таком состоянии пролежал до 4. IV, в этот день умер.

Вскрытие не дало никаких указаний на туберкулезный или гнойный менингит. В тот же день 6 кроликам введена эмульсия продолговатого мозга и аммониева рога. Один погиб через сутки, один—через 16 дней, один—через 22 дня. Три остались живы. Дальнейшие пассажи дали гибель кроликов через 13—15—18 дней без исключения. Две собаки погибли через 12 дней. Тельца Negri в мозгу мальчика не обнаружены; у кроликов найдены лишь на 10 и 11 пассаже; также у 2-ой собаки; у первой собаки найдены другие тельца, о которых речь ниже.

Подобное странное течение бешенства описано в работе Goldberg и Oczesalski. Чаще оно упоминается в качестве осложне-

ния после прививок. Колдаев приводит ряд случаев, протекавших при явлениях менингита. Считаясь с описываемым здесь случаем, можно усомниться, является ли эта форма болезни осложнением после прививок Нахождение уличного вируса в мозгу говорит скорее за то, что здесь имеется атипичное бешенство. Весьма возможно, что прививки участвовали в изменении типичной картины болезни, также как они вероятно участвуют при возникновении паралитической формы бешенства.

В работах многих авторов приходится читать, что обнаружение вируса еще не доказывает, что болезнь им вызвана. Эти утверждения основываются: 1) на 5 случаях Венской Пастеровской станции (наблюдения Paltauf'a и после него), где уличный вирус был обнаружен в мозгу больных укушенных и леченных, но погибших от случайного заболевания во время лечения, 2) на подобном же наблюдении Quast'a и на опытах его на собаках, где автору удалось обнаружить фиксированный вирус в мозгу вакцинированных и убитых после того собак. Данные Quast'a при проверке многими не подтвердились; очевидно, они являются не правилом, а исключением. Наблюдения Венской станции малочисленны и их трудно проверить, ибо очень редки случайные заболевания с смертельным исходом во время прививок. Для сравнения можно лишь привести случаи поствакцинальных параличей, закончившихся смертью. Здесь вирус обычно не обнаруживался; в последнее время его стали находить чаще, но ведь эти заболевания нельзя приравнивать к случайным — они так или иначе связаны либо с прививками, либо с укусом. И все же число испытаний мозга, давших отрицательный результат, значительно выше числа с положительным. Quast приводит случай туберкулезного менингита во время антирабических прививок, при котором был найден фиксированный вирус в мозгу человека. Если в нашем случае бешенство проходило под картиной менингита, то весьма возможно, что случай Quast'a в такой же степени вызван вирусом, как и туберкулезной инфекцией; один фактор мог содействовать другому. Среди случаев Paltauf'a имеется один с диагнозом *delirium tremens*, другой — энцефаломалация. Между тем Константинов наблюдал человеческое бешенство при явлениях *delirium tremens* (см. Микроб. Журнал т. VIII, вып. 2, стр. 189). Таким образом часть наблюдений немецких авторов можно толковать совсем иначе. Не считая все эти доводы достаточно опровергающими точку зрения Paltauf'a и Quast'a, я все же полагаю, что обнаружению вируса в мозгу умершего человека следует придавать этиологическое значение, если вирус этот типичен и легко обнаруживается. Чтобы утверждать иное, нужно представить более очевидные и неоспоримые данные, чего до сих пор не сделано. Такого же взгляда придерживается Remlinger в своем докладе на международном съезде по бешенству.

II. Случай паралитического бешенства.

М. М. девочка 13 лет, явилась на станцию 14 марта 29 г., через 2 дня после укуса. Поверхностные небольшие ранки на 2 пальцах руки и на левой голени.

Собака категории *B*. Назначено 16 прививок (вакцина по Philips'y). По истечении 12 прививок заболела: 25. III рвота 26. III темп. 38,5, возбуждена, неопределенные жалобы. 27. III боли во всем теле, не дает себя тронуть, переведена в больницу. Ригидность затылка. Кричит днем и ночью. Паралич ног, задержание мочи и кала. Нет ни гидрофобии, ни двигательного возбуждения, ни саливации. 28. III. Темп. 38,9°. Состояние то же. Руки подвижны, но имеется атаксия. 29. III кричать перестала, лежит спокойно. Самочувствие лучше. Ригидность затылка мало выражена. Паралич глотания. Есть и пить хочет, но не может. Умерла в 9 час. вечера.

В мозгу тельца Negri не обнаружены. Предполагая поствакцинальный паралич и зная, как редко в таких случаях удается обнаружить вирус, я ввел 20 кроликам эмульсию из разных частей мозга. Дело, однако, оказалось проще: погибли все кролики, получившие мозг *sub duram*, за исключением одного. Гибель наступала через 15—19 дней; следующие пассажи гибли через 12—17 дней. Тельца Negri обнаружены лишь на 4-м пассаже у собаки; тот же пассаж через кролика не дал их. Собака погибла через 17 дней при явлениях сильного возбуждения. Создалось впечатление, что в данном случае с помощью собаки легче было выяснить природу вируса, чем с помощью кролика. Из числа 4 кроликов, получивших мозг в мышцы, погиб пока один — через 50 дней.

На основании обнаружения вируса следовало бы считать данный случай паралитической формой бешенства; на основании чрезмерно короткой инкубации (14 дней) при наличии незначительных укусов — осложнением после прививок.

Клинически дифференцировать поствакцинальный восходящий паралич от паралитического бешенства трудно, дополнительные признаки бешенства описаны и при восходящих параличах, как-то: психическое и двигательное возбуждение, судороги, саливация и т. д. Таковы случаи, описанные Коцевало вым, Колдаевым. Busson, van den Hoven и другими. С точки зрения клинической приходится признать, что существуют все формы перехода от изолированных параплегий к восходящему параличу, к паралитическому бешенству и к смешанной форме заболевания.

Вопрос о том, чем вызваны параличи, еще, как известно, не разрешен и вызывает много предположений. В последние годы значительно увеличилось число положительных находок вируса в мозгу погибших людей. В работе Koritschoner и Schweinburg имеются указания о 6 испытаниях мозга умерших — все с отрицательным результатом. В работе Busson'а на той же Венской станции — 4 испытания и все с положительным результатом! Правда, это в значительной части совпадает с изменением метода прививок. В работе van den Hoven — 4 испытания мозга умерших, из них у троих обнаружен вирус. Во всех 7 случаях найден фиксированный вирус. Это склоняет многих авторов к мнению, что вирус прививочного материала является виновником параличей. За участие прививочного материала говорит еще следующее: 1) явная связь инкубации параличей с днем начала прививок, а не с днем укуса и не с тяжестью его, 2) случаи параличей после прививок, где не было укуса или где кусавшее животное оказывалось здоровым.

С другой стороны наличие паралитической формы бешенства с обнаружением уличного вируса в мозгу достаточно убедительно говорит за то, что уличный вирус в редких случаях дает преимущественную картину параличей. Описываемый мною случай одинаково может сойти за паралитическое бешенство и за послепрививочное осложнение. Подобные же случаи восходящих параличей, где найден был уличный вирус, описаны авторами: Lubinski, Quast und Licht, Knack. Наблюдение последнего несколько более приближается к картине бешенства. Два других мало чем отличаются от обычных описаний восходящего паралича. Их картина достаточно сходна с картиной, описанной в свое время Коцевало вым, где в мозгу однако был обнаружен не уличный, а фиксированный вирус.

Не приходится отрицать, что большинство клинических и экспериментальных данных говорит за этиологическое значение прививочного материала. Но если быть строго последовательным и учитывать все наблюдения, то следует признать, что параличи могут быть вызваны также и вирусом кусавшаго животного. В большинстве случаев нельзя исключить участие обоих факторов, оно даже очень вероятно.

Remlinger пытается строго дифференцировать паралитическое бешенство от *accidents paralytiques* на основании обнаружения вируса. Случаи, где вирус найден, он объявляет бешенством; где его нет — осложнением лечения. Но едва ли логически допустимо разъединять два состояния, клинически очень сходные и вызванные один раз вирусом, другой раз вакциной, содержащей вирус.

III. Случай анафилаксии и другие осложнения при антирабических прививках.

К. И., мужчина 22 лет, явился на станцию 16. III. 29 г. Полтора года тому назад лечился от укуса на Казанской Пастеровской станции. Сейчас имеется несколько ранок на пальцах правой руки. Первую прививку получил 16. III. На следующий день не явился. На 3-й день пришел и рассказал следующее; он полагает, что прививки на него плохо действуют, вечером в день первой прививки он почувствовал слабость в руках и ногах, шум в голове, головокружение, потерял аппетит. 17-го весь день лежал, пил, но ничего не ел, ноги при ходьбе дрожали от слабости; начал писать письмо, но дрожь в руках заставила бросить; головокружение как у пьяного; все время потел, голову утирал полотенцем, в 12 часов дня должен был сменить рубашку; сам подымался итти на двор, но от слабости передвигался с трудом. Ночью проснулся, ощутил сильный аппетит. На следующий день уже смог притти на прививки, но был еще слаб. Вторая прививка и все последующие прошли без всяких жалоб.

То обстоятельство, что пациент 1½ года тому назад прививался в Казани и что осложнение наступило после первой же прививки, а в дальнейшем не повторялось, с большой вероятностью говорит за анафилактический припадок. Если б такие случаи не были так исключительно редки, было бы очень соблазнительно привлечь анафилаксию, в качестве этиологического момента в возникновении параличей. В данном случае паралича собственно не было, а было лишь вступление к нему.

После перехода к методу Philips'a нам особенно часто приходится слышать разные жалобы со стороны пациентов. В связи с этим мы уменьшили в последнее время общее количество вводимого мозга до 125 мг, но жалобы продолжают поступать. Приведу некоторые из них:

1) Ч. И., 29 лет, 7-ая прививка. Головокружение, упал на работе (от головокружения); ночью озноб, весь в поту. Состояние повторялось в течение 4 дней. Руки дрожат, слабость. 2 дня не ходил на прививки, стало легче.

2) С. П., 31 года, 10-ая прививка. Голова болит два дня. Головокружение, дрожание рук и пальцев. Значительная слабость во время ходьбы. Все время потеет. 1 день перерыва в лечении. Состояние не изменилось. Туман в глазах. Ноги слабы, ходить трудно. В дальнейшем после окончания лечения состояние исправилось.

3) К., 27 лет, 9-ая прививка. Головокружение с 1-го дня. Вчера почти упала. Нет аппетита. Значительная слабость рук — трудно поднять, „как будто 10 пудов весят". Трудно стоять. Через несколько дней слабость проходит, аппетит улучшается.

4) Г., 54 лет, 9-ая прививка. Головная боль, слабость в руках, шум в голове. Через 4 дня — состояние ухудшилось: значительная бледность, ноги и руки дрожат, забывчивость, обмороки. Еще через 4 дня — очень слаба, встает и работает, но с трудом, на прививку несколько дней не ходит. В дальнейшем—все явления прошли.

5) Ф. Н., 29 лет, 10-ая прививка. Голова кружится, слабый аппетит, потеет. Жалуется на память. Его хозяйка говорит, что он стал заговариваться.

6) Ч. В. 29 лет, 7-ая прививка. Головная боль, общая слабость. Тяжесть в руках. Вялость физическая и умственная. Состояние длится 5 дней, потом проходит.

7) Б. М., 5 лет, 16-ая прививка. По сообщению отца стал пуглив. При испуге бросается бежать, затем плачет. Отец наблюдал такое состояние за время прививки 3 раза. Раньше не бывало.

Помимо перечисленных случаев зарегистрирован ряд других, более легких. Обычно повторяются следующие явления: головокружение, головная боль, повышенная температура, рвота, тревожный сон, общая слабость и бледность, плохой аппетит, слабость в руках и в ногах, дрожание пальцев и прочее. Каждый жалуется на 2—3 перечисленных признака. Длятся эти состояния от нескольких дней до недели, потом состояние проходит или пациент исчезает с нашего наблюдения. Иной раз приходится прерывать прививки, так как состояние явно ухудшается. На вопрос — было ли подобное и раньше, обычный ответ — нет, не было. Все эти осложнения совпадают во времени с описанным выше случаем паралитического бешенства и с случаем анафилаксии. В отличие от последнего они почти всегда возникают не ранее 6—7 дня лечения, обычно на 9—10 день. На основании нашего опыта приходится думать, что вакцина Philips'a дает чаще такого рода осложнения, чем Пастеровская. В литературе довольно мало говорится на эту тему. Только Koritschoner и Schweinburg, работая с Пастеровской вакциной, сообщают о довольно частых жалобах пациентов: на общее нездоровье, на усталость, отсутствие аппетита, головную боль, бессонницу, нервное возбуждение или подавленность, реже ими наблюдались: потеря в весе, парестезии в конечностях, тяжесть в ногах, затрудненная и неуверенная походка, преходящие затруднения в мочеиспускании. Опрос прививаемых происходил через 7—12 дней по окончании лечения. Мои

наблюдения собраны на основании заявления больных во время лечения, они не опрашивались предварительно, чтобы не внушать им возможность таких жалоб. Koritschoner и Schweinburg полагают, что все эти осложнения являются переходной ступенью к параличам и вызваны одним и тем же этиологическим фактором — по их мнению токсическим действием кроличьей нервной ткани, вводимой пациенту. Странно, что у Kraus'a, в его монографии о бешенстве, подобные осложнения почти совершенно не упоминаются. Создается впечатление, что они далеко не на всех станциях наблюдаются. Возможно, что они концентрируются в периоды появления серьезных осложнений — параличей—и являются как бы абортивными формами их. Перерывы в прививках на 2—3 дня обычно улучшают состояние, но и без перерыва явления исчезают, организм как бы предолевает их; однако иной раз жалобы усиливаются и состояние кажется угрожающим — в таких случаях мы прерывали лечение по нескольку раз.

IV. Морфологическая находка в мозгу животных, привитых вирусом Ш.

Вирус в мозгу мальчика Ш., погибшего при явлениях менингита, перевивался на протяжении 15 пассажей. Тельца Negri обнаружены на 10 и 11 пассаже. Из числа двух зараженных собак тельца Negri обнаружены у второй, у первой же в аммониевом рогу найдены другого рода тельца, изображенные на рис. I. Своей оболочкой и структурой они напоминают бластомицеты, при окраске мозга по Муромцеву они светло-фиолетового цвета, внутри имеется ряд зерен того же цвета, расположенных по окраине внутреннего кольца. От телец Negri они отличаются: 1) двумя контурами оболочки, 2) бледными, не резко выступающими зернами, окрашенными в общий с тельцем цвет. Они напоминают также цисты, и в поисках описаний подобных им образований я нашел нечто схожее в тельцах Канторовича и Леви при собачьей чуме. Там тоже говорится о цистах, но внутреннее строение их иное (см. Kolle—Kraus—Uhlenhuth — статья о собачьей чуме). Тельца эти наблюдались мною 1 раз у собаки, 3 раза у кроликов, 1 раз у свинки, у собаки — довольно много, у других значительно реже. Высказываться о характере этих телец я не берусь.

Рис. 1.

ЛИТЕРАТУРА

1) Koritschoner und Schweinburg. Zeitsch. f. Immun. 42, 2) Goldberg und Oczesalski. Wien. kl. Woch. 1913. 3) Коцевалов. Харьк. Мед. Журн. 1914, Centr. f. Bact. 73. 4) Koch. I. Centr. f. Bact. 64 и 104. 5) Remlinger. Annal. Inst. Past. 19. 6) Simon. Centr. f. Bact. 68. 6) Lubinski. Centr. f. Bact. 85. 8) Paltauf. Wien. klin. Woch. 1909. 9) Quast. Centr. f. Bact. 97. 10) Quast und Licht. Centr. f. Bact. 98. 11) Papamarku. Zeit. f. Hyg. 86. 12) Kraus, Gerlach, Schweinburg. Lyssa bei Mensch. und Tiere 1926, 13) Boecker Zeit. f. Hyg. 106. 14) Knack, Zeit. f. Hyg. 106. 15) vanden Hoven. Zeit. f. Hyg. 105. 16) Koldajew. Zeit. f. Hyg. 107. 17) Busson. Centr. f. Bact. 99. 18) Remlinger. Ann. Inst. Past. 1928. Добавочный номер с отчетом о 1 международном антирабич. съезде 19) Гамалея Ann. Inst. Past. 1887. T. 1. (цитировано в работе Коха).

Научная хроника.

Орг. Комитет по созыву 3-го Поволжского съезда врачей.

ОБРАЩЕНИЕ КО ВСЕМ НАУЧНЫМ УЧРЕЖДЕНИЯМ, ОБЩЕСТВАМ, ОТДЕЛАМ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ВРАЧАМ ПОВОЛЖЬЯ.

В годы величайшего напряжения сил трудящихся, направленных на социалистическое строительство, особое значение приобретают вопросы восстановления утраченных в борьбе сил организмов и в особенности вопросы охраны здоровья трудящихся — предупреждения преждевременного выхода из единого мощного строя борцов за новое общество. Грандиозные задачи индустриализации страны и коллективизации сельского хозяйства ставят перед советским здравоохранением новые вопросы.

Вместе со всей страной и общественно-врачебная жизнь претерпевает глубочайшие изменения, перестраиваясь на началах коллективизма. На путях этой колоссальнейшей перестройки в деле советского здравоохранения, постоянного совершенствования кадров в сторону теснейшей увязки научной и практической медицины, — необходима периодическая проверка достижения за прожитое, исправление нежелательных уклонов от единого верного пути, разработка и обсуждение планов на будущее, кои шли бы в ногу с задачами советского здравоохранения.

Успех первых двух Поволжских съездов врачей указал дальнейший путь к осуществлению такой проверки. Выполняя пожелание 2-го Поволжского съезда, Правление Астраханского Госуд. Медиц. Института, Астрах. Отдел Здравоохранения, Секция врачей при Окр. Отделе Союза Медсантруд и Секция научных работников при Окр. Отделе Союза Работников Просвещения взяли на себя организацию созыва 3-го Поволжского съезда врачей в г. Астрахани летом 1930 года.

На предстоящем Съезде в еще большей степени, чем на двух предыдущих, должно быть выражено активное участие практических работников мест, в особенности участковых врачей, которое выявит наши успехи и достижения по линии связи научных учреждений Поволжья с питающими их корнями — участковой медицинской сетью. Съезд должен выявить готовность медико-санитарного дела Поволжья к обеспечению тыла трудящихся в их героической борьбе за укрепление новых устоев жизни.

Для организационной работы по созыву 3-го Поволжского съезда создан Организационный комитет в составе: проф. Баккал И. С., д-р Балашов А. П., д-р Беляева А. К., т. Болотин П. И., проф. Бржезовский А. Г., доктор Визгина Е. А., д-р Гуткин В. Б., д-р Животовский Г. Е., д-р Каланта-ров, В. М., проф. Коган Е. Н., т. Королев И. И., д-р Коротецкий С. А., д-р Красовская Т. М., т. Кудинов С. Г., д-р Лапук Д. М., проф. Лидский А. Т., д-р Липсон А. Г., проф. Мальков А. А., т. Матвеев И. П., проф. Мельников А. Е., д-р Поливанов, т. Сальникова, т. Ситников К. Д., пр.-доц. Смирнов Е. В., проф. Телятников С. И., доц. Топорков Ф. М., д-р Фарманов Ф. Г., т. Филатов Н. А., т. Фролова А. М., д-р Циммерман Л. Л., пр.-доц. Шейнфайн М. Г.

Организационный комитет обращается с просьбой ко всем научным учреждениям, обществам, отделам здравоохранения и ко всем врачам Поволжья и соседних

областей принять участие в работах 3-го Поволжского съезда врачей, а также и в подготовке его присылкой указаний о желательных к постановке на съезде вопросах.

Оповещение об окончательном выборе програмных вопросов съезда и о точном сроке созыва его будет разослано в конце февраля т. г.

Всю корреспонденцию по вопросам 3-го Поволжского съезда врачей просят направлять по адресу: Астрахань, Мединститут, Оргбюро 3-го Поволжского съезда врачей.

Председатель Орг. Комитета *проф. А. Мельников.*
Тов. председателя { *проф. А. Лидский.* / *д-р В. Гуткин.*
Секретари { *доц. Ф. Топорков.* / *д-р Е. Визгина.* / *д-р Г. Животовский.*

* * *

Занятия II съезда микробиологов протекали в Москве 27—31 января 1930 года. Съезду надлежало обсудить: 1) вопросы, связанные с 1) противотуберкулезной вакцинацией, 2) изменчивостью микробов, 3) профилактикой скарлатины, 4) сыпным тифом.

I заседание было посвящено вопросу об иммунизации детей против туберкулеза вакциной *BCG*. Критическому разбору современного состояния вопроса о *BCG* и был посвящен доклад д-ра Любарского. Докладчик коснулся двух основных проблем. Первая—безвредность *BCG*, иными словами невозможность превращения этого штамма *in vivo* в сильно вирулентную форму; вторая — вакцинирующая способность *BCG*. На основании огромного литературного материала докладчик на первый вопрос отвечает утвердительно. Штамм *BCG* неспособен в организме диссоциировать в вирулентную, патогенную форму. Что же касается другого вопроса, то в настоящее время трудно с уверенностью говорить о большом иммунизаторном эффекте этой вакцины. Действие ее ограничено и по времени, и по силе. Надлежит еще работать в этом направлении.

Во всех последующих содокладах представлены были данные проверки безвредности *BCG* и его вакцинирующего действия в применении к детям и к экспериментальным животным. Большинство докладчиков (Тогунова, Эльберт, Цехновицер, Кричевский) приходит к выводу, что культура *BCG* безвредна, не превращается, не диссоциирует в организме в вирулентную разновидность. Новорожденные свинки и телята, получившие *per os* различные количества *BCG*, не отстают в своем развитии от соответствующих контролей; пассажи же культуры через яичко могут увеличить патогенность ее для морской свинки, при чем в первые месяцы можно наблюдать морфологические изменения у животных, затем, однако, подвергающиеся обратному развитию.

Детей в Союзе привито всего около 3000 и вредных последствий от прививки не наблюдалось. В противовес большинству экспериментаторов, Коршуну и его сотрудникам удалось получить и вирулентную разновидность культуры *BCG* пассажем чрез яичко морской свинки. В вопросе о вакцинирующем действии *BCG* — меньшая определенность. Иммунизирующие свойства *BCG* проявляются в различных степенях. У вакцинируемых *per os* свинок, повидимому, не развивается сколько нибудь выраженного и стойкого иммунитета к последующему подкожному заражению вирулентным туберкулезным штаммом: небольшое число свинок дает значительное переживание контролей и анатомически туберкулезный процесс более выраженного фиброзного характера. Подкожное интравенозное введение *BCG* телятам сообщает устойчивость животным к последующему интравенозному заражению сильным вирусом, предохраняя их от смертельной инфекции, а большинство и от тяжелого заболевания. При интравенозном заражении массивными дозами сильного вируса вакцинирующее действие *BCG* является недостаточным. Большинство вакцинированных телят, значительно переживая контрольных, погибают все же от туберкулеза. Сила и продолжительность возникшего после вакцинации *BCG* иммунитета требует дальнейшего изучения.

На основании представленного материала Центральная Комиссия по изучению *BCG* полагает вопрос о безвредности штамма *BCG* решенным в положительном смысле и дальнейшие работы в широком масштабе в этом направлении считает излишними. Все внимание должно быть обращено на изучение вакцинирующего действия *BGG*. Опыты рекомендуется производить на телятах.

Второй день занятий Съезда был посвящен вопросу, о диссоциации микробов.

Первый программный доклад по этому вопросу сделал проф. Штуцер (Ростов). На основании литературного и своего экспериментального материала, докладчик полагает, что все известные нам варианты, гладкие, шероховатые и другие, только стадии цикла развития микробов. В одной из стадий развития микробов докладчик нашел ясно видимое ядро. Во втором программном докладе проф. Златогоров рассматривал условия изменчивости микробов. Докладчик полагает, что нет схемы для получения вариантов. Каждую культуру надо рассматривать, как собрание микробных индивидуальностей, каждая клетка обладает своей идивидуальной способностью вариировать и, следовательно, у каждой культуры есть своя конституция, изучая которую можно объяснить многие вопросы изменчивости. Автору удалось методом диссоциации доказать близкое родство микроба ложного туберкулеза грызунов к чумному, что имеет большое, по мнению докладчика эпидемиологическое значение. В последующих докладах приведены данные диссоциации в пределах кишечной группы. Различными методами, как то: прибавление культуры специфической сыворотки, дезинфицирующих растворов или бактериофага удается из культур дизентерии *Shiga*, брюшного тифа и других получить варианты, сильно отличные от исходного штамма. Неподвижная исходная культура палочки дизентерии *Shiga* в работе д-ра Трушиной (Москва) диссоциирует с образованием подвижной формы, агглютинирующейся паратифозной сывороткой. Культивируя тифозные палочки в сильных концентрациях тифозной агглютинирующей сыворотки, как то сделала д-р Френкель (Киев), можно получить совершенно не агглютинирующийся вариант. С другой стороны, д-р Клюева (Ростов) выделила из кишечника убойных животных не агглютинирующиеся паратифозные штаммы. Проведением через желчь удается вернуть их к агглютинирующему типу и тем самым доказать их принадлежность к паратифозной группе. Относительная легкость образования вариантов в животном организме и в природе затрудняет, конечно, бактериологическую диагностику. Поэтому, а также и в силу теоретических обоснований решено было по предложению проф. Штуцера образовать при Ученом Совете Комиссию для разработки классификации кишечной группы и выработки единой методики исследования. Работа должна быть разделена между всеми Институтами Союза.

В виду болезни проф. Коршуна Съезду не мог быть представлен большой статистический материал о результатах скарлатинозных прививок. По вопросу о смешанных прививках выступал проф. Маслаковец (Ленинград). Одновременное развитие двух эпидемий, скарлатинозной и дифтерийной, выдвинуло, по чисто практическим соображениям, необходимость смешанной иммунизации. В связи с этим надо было решить два вопроса: с одной стороны, не будет ли реакция на два токсина слишком тяжелой, и с другой, достигнет ли вырабатываемый при такой прививке иммунитет той же силы, что и при раздельной иммунизации— иными словами, не произойдет ли угнетение дифтерийного антигена скарлатинозным и наоборот. Данные широкого опыта, поставленного по Ленинграду и охватившего около 8000 детей, говорят, что реакция при смешанной вакцинации отнюдь не резче, чем при раздельной. В отношении же выработки иммунитета, показателем чего является переход положительной реакции Schick'a и Dick'a в отрицательную, дело обстоит несколько иначе. Процент перехода реакции Schick'a в отрицательную при смешанной иммунизации почти совпадает с таковым после чисто-дифтерийной, процент же перехода реакции Dick'a в отрицательную при смешанной вакцинации отстает; при последней он равен 50%, при чисто скарлатинозной — 78%. Дело будущего выяснить, является ли это результатом угнетения скарлатинозного антигена дифтерийным, или же мы имеем дело с более замедленной выработкой иммунитета. Возможно, что испытания, сделанные не через 6 недель, а позже, дадут более благоприятный результат.

На основании представленных материалов по вопросу о профилактике скарлатины Съезд пришел к выводу, что нет никаких оснований к изменению постановлений предыдущего Съезда бактериологов и эпидемиологов о широкой повсеместной вакцинации детского населения.

Вниманию Съезда был предоставлен еще ряд работ по выяснению природы мальтийской лихорадки, бактериофага, токсинов и анатоксинов, но за недостатком места нам не придется всех их коснуться. Хочу остановиться лишь на работах, имеющих актуальное эпидемиологическое значение. В первой — исследовался вопрос об инфекциозности дифтерийных бациллоносителей.

Башенин, Равикович, Фридланд обнаружили методом кашлевых пластинок палочки у носителей и полагают, в противовес Friedemann'y, что инфекциозность носителей в отношении распространения микробов в окружающую среду и их жизнеспособности во всяком случае не меньше, чем у больных. Вторая работа касалась эпидемического лептоспироза — так называемой водной лихорадки *Schlaumfieber* — немцев. Картина болезни характеризуется температурной реакцией до 40 — 39°, продолжительностью 5 — 9 дней, резкими головными и мышечными болями, значительной гиперемией конъюнктивы; отмечается сыпь, язык обложен. Отсутствуют, как правило, катарральные явления дыхательных путей. Появление заболевания совпадает с началом покоса трав на заливных и заболоченных лугах. Все больные до заболевания или при появлении заболевания принимали участие в покосе лугов. В крови у больных удалось бактериологически и бактериоскопически доказать присутствие лептоспир.

Работы Съезда закончились 31 января. В них приняли участие 900 микробиологов. В качестве гостей присутствовали немецкие микробиологи: Friedberger, Gildemeister, Reiter и Bürgers, сделавшие ряд докладов на тему об активной иммунизации против дифтерии, профилактике скарлатины, значении конституции в учении об инфекции и о поствакцинальном энцефалите. К сожалению, мы лишены возможности поподробнее на них остановиться. Следует отметить большую посещаемость Съезда и неослабный интерес к его работам всех участников. Следующий Съезд состоится в 1932 году.

RÉSUMÉS.

De l'Institut Bactériologique Central du Commissariat de la Santé publique.

Sur la formation des anatoxines.

D. Kissina et L. Bronstein.

En précipitant les toxines et les anatoxines par un acide on remarque trois points caractéristiques:

I — p_H — 6.3

II — maximum de précipitation (p_H — 3.9—4.0).

III — l'apparition de l'acide libre (p_H — 2.5 — 2.6).

Le rapport des quantités d'acide dans les intervalles de I et II et de II et III est une grandeur constante et est égale pour la toxine diphtérique à 1:2; pour son anatoxine 1:1; pour la toxine tétanique 1:1 et pour son anatoxine 1:0,5.

En vieillissant les toxines manifestent la même variation du quotient acide qu'aux premiers stades de l'action du formol dans la préparation de l'anatoxine, c. a. d. on constate le passage du quotient 1:2 à 1:1 et de 1:1 à 1:0,5. Nous l'avons expliqué par le fait que dans la toxine diphtérique un groupe carboxyle correspond à deux groupes aminés, un primaire et un autre, qui ne subit point l'action du formol (peut être tertiaire).

Pour vérifier ces hypothèses nous avons déterminé par la méthode Van Slyke la teneur de l'azote aminé dans les toxines et les anatoxines diphtériques. Nous avons constaté que les anatoxines contiennent de l'azote aminé libre, d'où il suit que le second groupe aminé n'est pas tertiaire, mais pour certaines raisons ne réagit pas avec le formol.

Le rapport de l'azote aminé de la toxine et celui de l'anatoxine correspondante est égal au quotient acide de la toxine donnée. Ce rapport demeure invariable et pour les toxines vieillies avec quotient acide changé.

Donc le quotient acide exprime effectivement le changement de structure de la toxine quand on la transforme en anatoxine de même que pendant le vieillissement de la toxine.

From the Bacter. Institute „Pasteur". Leningrad.

Concerning the Preparation of Toxin for the Schick Test with Borax Buffer Solution.

By N. A. Verjikovsky and E. F. Gogin [1]).

The authors have studied the stability of the dilutions of diphteria toxins for the Schick test ($^1/_{40}$ *Dlm* in 0.2 cc) prepared with the Borax Buffer Solution as suggested by Glenny, Waddington and Pope. Believing that for technical reasons the comparative intracutaneous tests of such toxins are not sufficiently sensitive for the determination of inconsiderable losses in potency, the authors carried out their tests of the Schick toxins kept under various conditions by subcutaneous injections to guinea-pigs of 8 c.c. of this toxin (= 1 *Dlm*). Even in case of an inconsiderable loss in the potency of the toxin it either fails to cause death in a guinea-pig or it is caused with delay.

Two toxins when kept on ice (at 2 — 4° C) preserved their full potency for over $5^1/_2$ months, one — for over 2 months (and for less than $6^1/_2$ months). At the temperature of 37° C all the toxins rapidly lost a considerable amount of their potency. At 13 — 15° C (room-temperature during the winter months) two toxins preserved their full potency only for two days, while the third preserved it for over 17 days. At the temperature of 22 — 24° C (room-temperature, during the summer months) the same toxin failed to preserve its potency even for two days. Thus the effect of temperature on the stability of the Schick test toxin is markedly manifest. In all the instances control preparations of the toxins with saline proved to be considerable less stable.

The authors' conclusions are as follows:

1) The Borax Buffer Solution suggested by Glenny, Waddington and Pope is beyond doubt a more favourable diluent for the diphteria toxins than the usual saline.

2) The antiseptic properties of this Buffer Salt Solution are markedly manifest and are one of its greatest advantages.

3) Varius batches of the diphteria toxin differ from one another considerably in a diluted state with respect to their stability. Therefore the preparation of Schick toxins with the Borax Buffer Solution with the intention of preserving them for a more or less considerable time seems only possible after a given diphteria toxin has been studied with respect to its stability with the mentioned solution at definite temperatures. The final dilution of the toxin for the Schick test should be tested by its fatal effect on a guinea-pig (injection of 8 c. c.).

[1]) Translated by I. R. Gerbatch.

From the I-st State Sanit.-Bacteriological Institute of Ucraina and the Military Veterinary Laboratory (Kharkoff).

The Toxin of Streptococci and the Antivirus.

L. L. Kandiba and I. J. Sadovsky.

IV. Experiments of local immunization on young horses.

1) The local immunity against streptococci, as well as the general, is bound within strict quantitative limits.

2) Accordingly, the experimental demonstration of it requires optima qualitative conditions of the test.

3) Our test give a clear demonstration of the phenomenon of local immunity.

4) The local immunization (of cats and young horses) inables to inject inoffencively into the organism large quantities of live streptococci.

5) The main active principle of the antivirus of Besredka is a toxoid of the streptococcal toxin.

6) The streptococcal toxoid possesses an easily manifested specific locally immunizing action.

7) The proteins also possess in a comparatively high degree the property of raising the local resistance of tissues. The streptococcal toxoid is endowed with this property in a much higher degree.

8) The fresh toxin of streptococci has a capacity to aggravate the streptococcal infection.

9) The antivirus of Besredka, therefore, at preparation should be heated to 60° C for 30—60 minutes.

Aus dem Staatsinstitut für experim. Tierheilkunde.

Das Präzipitations und physikalische Verhalten der verschiedenen Euglobulinfraktionen in präzipitierendem Milzbrandserum.

N. N. Lewitow.

Die Stabilität der Immunserumalbumine ist abhängig von dem Hyperimmunsierungsverfahren. Die intravenöse Hyperimmunisierung bedingt geringere Stabilität der Serumalbumine, als die subkutane und kutane. Labilität des Eiweisses in Präzipitierenden Seren bedingt Zunahme der nichtspezifischen Reaktionen. Im Milzbrandserum sind die Euglobuline Träger der Präzipitation. Die Euglobuline bilden keine einartige Gruppe, sondern verhalten sich verschieden sowohl in der Präzipitation, als auch physikalisch. Durch Verdünnung mit *Aq. dest.* in verschiedenem Verhältniss können aus Milzbrandserum mehrere Euglobuline, verschieden in Präzipitationsverhalten und Stabilität in kolloidalen Lösungen gewonnen werden.

Schlussfolgerungen.

1. Die durch *Aq. dest.* 1:10 u. 1:20 fällbaren Euglobuline in präzipitierendem Milzbrandserum sind physikalisch und präzipitatorisch keine einartige Albuminfraktion.

2. Die Gruppe der linken Euglobuline ist am wenigsten stabil und ist präzipitatorisch am wirksamsten.

3. Es besteht keine vollkommene Parallelität zwischen Stabilitätsgrad der Euglobuline in präzipitierendem Milzbrandserum und ihrer Präzipitationswirkung.

4. In vorstehenden Versuchen wurden durch *Aq. dest.* 1:3 präzipitatorisch maximal wirksame Euglobulingruppen ausgefällt.

5. Nach Ausfällung der in P. 4 angegebenen Gruppen sind die zurückgebliebenen, mit *Aq. dest.* 1:10 u. 1:20 fällbaren Eiweissfraktionen erheblich stabiler und wirken kaum präzipitierend.

6. Je schwächer die Konzentration der Euglobulinfraktionen in Lösungen und je höher der *NaCl* — Gehalt, desto mehr unterscheiden sie sich von einander in Stabilität und Präzipitationsverhalten.

7. Es ist anzunehmen, dass es zahlreiche Euglobulinfraktionen gibt mit verschiedenen Eigenschaften.

8. Indem bestimmte Euglobulingruppen in präzipitierendem Milzbrandserum ausgefällt werden, wird das Serum von unnötigen, die Präzipitationsreaktion schädlich beeinflussenden Eiweissgruppen befreit.

9. Bei geeigneter Kombination der Salz — und Eiweisskonzentration können die optimalen Komponenten für die Präzipitationsreaktion erzielt werden mit hohem Aktivitätsgrad und einem Minimum nichtspezifischer Reaktionen.

Aus dem Bakteriologischen Institut Pasteur. Leningrad.

Der Organismus als ein heterogenes System.

N. N. Andrejew.

Seit den letzten Jahren beginnt die physikalische Chemie, bekanntlich eine immer grössere und grössere Rolle in der Erforschung der biologischen Prozesse zu spielen.

Dieser Umstand findet seine Erklärung in den angestellten Beobachtungen, welche dahin hinauslaufen, dass der Mechanismus dieser Prozesse stets auf physiko-chemische Erscheinungen zurückzuführen ist.

Einen grossen Nachteil bildet bei derartigen Untersuchungen deren Zersplitterung: jeder einzelne Prozess wird an sich und nicht in seinem Zusammenhang mit anderen erforscht.

Ein allgemeiner Ueberblick und damit auch Standpunkt fehlt und für viele Prozesse fällt es in Folge dessen äusserst schwer die entsprechenden physiko-chemischen Erscheinungen aufzufinden. Hierher gehören beispielsweise die Nerventätigkeit, die Immunität u. dergl. n. m.

Meines Erachtens ist ein allgemeiner Standpunkt, der sämtliche in einem Organismus sich abspielende physiko-chemische Erscheinungen charakterisiert, in der Auffassung gegeben den Organismus als ein heterogenes System, mit allen für ein solches System charakteristischen Prozessen, anzusprechen. Diese These ist an und für sich in dem Grade augenscheinlich, dass sie keiner besonderen Beweisführung bedarf.

Der Organismus besteht aus untereinander nicht mischbaren Stoffen, welche von einander durch Grenzoberflächen getrennt sind — und das ist ja gerade das, was man unter einem heterogenen System versteht.

In welchem Masse der Begriff der Heterogenität dem Begriff eines Organismus entspricht ist daraus zu ersehen, dass alle bisher vom physiko-chemischen Standpunkte aus bewerteten biologischen Prozesse in solchen Erscheinungen der physikalischen Chemie ihre Erklärung gefunden haben, welche ausschliesslich heterogenen Systemen eigen sind. Wahrhaftig — die Harnausscheidung findet dank der Ultrafiltration, in Folge des hohen osmotischen Druckes in den Zellen statt. Durch denselben osmotischen Druck und die Permanäität der Zellhäute werden die Lymphbildung, die Exsudate und Transsudate erklärt. Wasseransammlungen treten nach M. Fischer dank Anstellungen der Gewebe und in Folge von Säureansammlung auf. Die Grundlage der Assimilation und Dissimilationsprozesse bilden die Erscheinungen der Katalyse.

Die unglückmässige Verteilung verschiedener Stoffe im Organismus hängt in vielen Fällen von der Adsorption ab. Die Bewegungsrichtung der Flüssigkeiten im Organismus steht mit der Gegenwart der elektrischen Ladung an der Oberfläche der Zellhäute, dem sog. Membran-Potential, in Zusammenhang. Die Organismenformen werden durch die Ausscheidung von Stoffen bei Reaktionen, welche unter heterogenen Systemen zukommenden Bedingungen verlaufen, erklärt. Als Beispiele seien die sog. künstlichen Organismen, die Liesegang'schen Ringe genannt, ferner gehören hierger die folgenden Prozesse: die Ultrafiltration, die Osmose, die Quellungserscheinungen, die Katalyse, die Absorption, das Membran-Potential u. s. w. — alle diese Prozesse sind, wie schon erwähnt, für heterogene Systeme charakteristisch.

Ist nun der Organismus — ein heterogenes System, und damit steht in Verbindung der Charakter sämtlicher in ihm sich abspielender Prozesse, so ersteht naturgemäss der Gedanke, dass in der Heterogenität die Erklärung auch für bei weitem wichtigere biologische Erscheinungen zu suchen sein dürfte, als: die Organisierungserscheinungen, die Zweckmässigkeitserscheinungen, die Vererbungs — und Evolutionserscheinungen und, möglicher Weise, die Entstehungserscheinung des Lebens auf der Erde. Es scheint mir nicht als unwahrscheinlich, dass bei gründlichem Erforschen der heterogenen Systeme (und sie sind im allgemeinen bisher sehr wenig erforscht) und im Speziellen der eiweisshaltigen, wir neue Bahnen betreten könnten, welche Licht in diese Erscheinungen hineintragen würden. Somit bildet die Heterogenität des Organismus jenen Ausgangsstandpunkt, auf welchen sämtliche biologische Erscheinungen zurückgeführt werden müssen.

Aus der Epidemiologischen Abteilung des Bakteriol. Instituts zu Kiew.

Versuch, die Mikroben der Coli-Typhusgruppe nach ihrem Verhalten den Salzen anorganischer Säuren gegenüber zu differenzieren.

W. G. Drobotjko und S. I. Gorodinskaja.

Wir haben den Versuch gemacht die Coli-Typhusgruppe zu differenzieren nach ihrem Wachstum auf Nährböden, welche dem Simmons'schen, analog sind und folgende Zusammensetzung haben.

$(NH_4)_2HPO_4$	1,0
K_2HPO_4	1,0
$MgSO_4$	0,2
NaCl	5,0
Aq. dest.	1,000,0
Agar (gewaschen)	20,0

Zu diesem Ausgangsagar wurden gewisse Salze organischer Säuren: *Natr. citric., Natr. aceticum, Natr. succinicum, Natr. lacticum, Calc. bimalicum, Tartarus natronatus, Natr. formicicum* und *Natr. oxalicum* zu je 1 g auf 100 ccm des Nährbodens und einige Tropfen Bromthymolblau als Indikator hinzugesetzt. Die Reaktion des Nährbodens wurde durch Hinzufügung von *NaOH* oder *HCl* (bis zur grüner Farbe) korrigiert. Die Beimpfung des in Petri-Schalen gegossenen Nährbodens erfolgte durch Anlegung von Strichkulturen; die Resultate — Wachstum, wobei der Nährboden in Umgebung des Strichwachstums sich bläulich verfärbte, od. Fehlen von Wachstum wurden nach 24—28 Stunden Brutschrankaufenthalt notiert.

Es zeigte sich, dass auf Nährböden mit Zusatz von *Tartarus natronatus, Natr. formicicum* und *Natr. oxalicum*, die Vertreter der Coli-Typhusgruppe kein Wachstum zeigen. Die übrigen Salze konnten zur Ernährung einiger Arten dieser Gruppe und zu derer Differenzierung von einander dienen. In der Tabelle, wo + das Wachstum und deren Intensität bezeichnen, kommen diese Verhältnisse klar zum Ausdruck.

Aus der Tabelle (siehe S. 43) ist ersichtlich, dass es möglich ist gewisse Stämme die bis jetzt kulturell sich nicht unterscheiden liessen, zu differenzieren, z. B. den B. *Paratyphi* N_1 und *B. Paratyphi* N_2.

Auf diesen Nährböden verhielt sich der neuerdings von Wiktoroff gefundene Stamm „*G*" — ein Übergangsstamm zwischen *B. Typhi* und *B. Gaertneri*, anders als der gewöhnliche Eberth'sche Typhusstamm („*T*" nach Wiktoroff) indem er dem Paratyphus N_1 und *B. Voldagsen* sich näherte: fehlendes Wachstum auf Nährböden mit *Natr. succinicum* und *Natr. bimal.*

Zwei Sammlungsstämme des *B. Abortus equi* — St. 38' und St. *Leusch* 4" verhielten sich verschieden. Der letzte wuchs auf allen oben angeführten Nährböden, der zweite nur auf denjenigen mit *Na. lact.* und auch da nur sehr schwach.

Der *B. Lactis aerogenes* zeigte eine grössere Aktivität im Vergleich zu anderen genannten Stämmen, indem er auch auf Nährböden mit *Tartarus natronatus*, *Natr. formicicum* und *Natr. oxalicum* ein Wachstum aufwies, wobei er im letzten Falle die Reaktion nicht nah der basischen Seite, sondern nah der Saüren hin veränderte.

Die Prüfung des Wachstums auf den beschriebenen Nährböden der Vertreter der Coli-Typhusgruppe kann bei der Differenzierung der einzelnen Arten gute Dienste leisten, besonders bei Unterscheidung der einzelnen paratyphösen Bakterien bei denen die Differentialdiagnose immer auf gewisse Schwierigkeiten stösst.

Aus der Epidemiol. Abt. des Bakteriol. Instituts, Odessa.

Ueber farbstoffbildende typhusähnliche Bakterien.

I. Lewin.

Aus dem Blute eines typhusähnlichen Falles wurde ein Stäbchen isoliert (Verimpfung 20 ccm. Blut auf 50 ccm. Galle), das gelben Farbstoff bildete und von dem Serum des Kranken in Verdünnung von $^1/_{400}$ agglutiniert wurde. Bei Züchtung desselben auf künstlichen Nährböden wurde ein Stamm gewonnen, der sich vom Ausgangsstamm nur durch fehlende Farbstoffbildung unterschied.

Auf Grund seiner morphologischen Eigenschaften, der lebhaften Beweglichkeit, seines Vergärungsvermögen (keine Gasbildung auf Traubenzuckernährböden), der fehlenden Indolbildung, seines Verhaltens auf Rothberger, Laktose und Dulzitnährböden und auch teilweise auf Grund der serologischen Eigenschaften, ist eine Ähnlichkeit zwischen den isolierten Stäbchen und den Eberth'schen Bazillen festzustellen. Von letzteren unterscheiden sie sich aber durch Alkalibildung auf Lakmusmolke, durch Milchkoagulation, durch Vergärung von Saccharose unter Säurebildung und durch den Absättigungsversuch nach Castellani.

Die Frage über die Beziehung unserer Stämme zu den Typhusstäbchen, sowie über ihre pathogenetische Rolle bleibt offen.

Aus dem Militärveterinären Mikrobiologischen Institut zu Leningrad.

Der *Bac. Abortus equi* und die Typenverschiedenheit der Paratyphusgruppe nach der Lehre der Kieler Schule.

F. A. Turandin.

1. Das *Bact. abortus equi* bildet Kolonien mit scharf ausgeprägtem Schleimwall und Radiärstreifung.

2. Das Rutschphänomen auf Gelatine und die positive Reaktion auf Rhamnosemolke fehlten.

3. Im Mäuseverfütterungsversuch erwiesen sich die Kulturen als apathogen.

4. In Stern-Bouillon fehlt die für das *Bact. paratyphi B* charakteristische Farbenreaktion.

5. Auf Grund der positiven Schleimwallbildung der negativen Rhamnosereaktion der Apathogenität im Fütterungsversuch und der ausgesprochenen Agglutination durch Paratyphus *B* Serum kann das *Bact. abortus equi* in die Gruppe *B. paratyphi B* eingereiht werden.

6. Die Besonderheiten des Wachstums auf einigen Nährböden, die negative Reaktion in der Stern-Bouillon und die Agglutination gestatten das *Bact. abortus equi* vom *Bact. paratyphi B Schottmüller* zu differenzieren.

Aus der Biologischen Abteilung des Moskauer Erismann'schen Sanitäts-Instituts.

Zur Methodik der Anfertigung eines elektiven Nährbodens für den *Vibrio Cholerae*.

P. P. Diakonow.

Zusatz von 4% *natr. carbonicum* zum Haemoglobinnährboden (nach Kabeshima) erwies sich als optimal im Sinne der Elektivität für Choleravibrionen.

Aus dem Bakteriologischen Institut Pasteur. Leningrad.

Mäusefavus beim Menschen.

F. S. Griff und **M. M. Itkin.**

Im Verlaufe eines Jahres und einiger Monate haben die Autoren 3 Mal die Kultur des *Ach. Quinckeani* gezüchtet: 2 Mal bei einer Affektion bloss der unbehaarten Haut und 1 Mal bei einer gleichzeitigen Erkrankung des behaarten Kopfes und der unbehaarten Haut; im letzten Falle wurde die Kultur sowohl von der Haut als auch den Haaren gewonnen. Das klinische Bild der Affektionen der unbehaarten Haut unterschied sich wenig von dem der gewöhnlichen Trichophytien. Makroskopisch wurden keine Scutula sichtbar. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Haare vom afficierten Kopfherde machte es den Eindruck, als ob letztere (d. h. die Haare) von Pilzelementen umhüllt waren, welche von den Haaren anhaftenden Krusten ausgingen und nur hier und da zeigten die Pilze die Tendenz in das Haar einzudringen. Bei der Aussaat des Materials auf verschiedene Nährböden wurde die typische Kultur des *Ach. Quinckeani* gewonnen. Das Studium des Kulturrasens im hängenden Tropfen liess ein an die Trichophytie und Mikrosporie erinnerndes Bild erkennen, und zwar:

eine ansehnliche Anzahl sowohl disseminierter als auch ähren- und traubenförmiger Ektosporen, ferner mehrere vielzellige Spindel, welche zum grössten Teile den Seitenästen des Myzels, je 2—3 aus einem Aste, anhingen. Beim Meerschweinchen bildeten sich nach Impfung tiefliegende von, mitunter den Scutula ähnlichen, Krusten bedeckte Infiltrationen. Auf der Höhe des Prozesses konfluierten die Krusten zu einer massigen Kruste und fielen am 10 Tage entweder in toto oder teilweise mitsamt den Haaren ab, dabei eine stark hyperämische und blutende Oberfläche hinterlassend. Zum Schluss des Monats war das Infiltrat resorbiert, blasste ab und an der afficierten Stelle begann der Haarwuchs. (Siehe Photogrammen, S. 70—71.).

Lehrstuhl für Mikrobiologie am Medizinischen Institut. Charkoff.

Anaerobenzüchtung in isolierten Eprouvetten und Petri-Schalen.

S. Mironov.

Die Anaerobenzüchtung in isolierten Gefässen erscheint als die einfachste und bequemste Methode. Sie gestattet das Wachstum zu verfolgen, ohne die Anaeroben-Bedingungen zu unterbrechen. Eine genügend intensive Absorption von Sauerstoff durch eine Mischung von 2,5%-igen Lösung von Pyrogallol und einer 5%-igen Soda- oder Alkalilösung gestattet die Methode von Votteler-Rickards auf die Anaerobenzüchtung in isolierten Eprouvetten anzuwenden, wobei der minimale Aufwand von Reaktiven diese Methode billig gestaltet und für jedes Laboratorium zugänglich macht.

Die von mir vorgeschlagene Methode ist eine nach dem Prinzip von Rockweller durchgeführte Züchtung in Petri-Schalen.

Zur Sauerstoffabsorption aus einer Schale von 100 cm^3 Volum sind 0,5 cm^3 44%-iger Pyrogallollösung und 4 cm^3 einer 20%-igen Sodalösung erforderlich. Die Mischung wird in einen besonders konstruierten Gummischlauchring gebracht. Das schützt die Mitte vor Verunreinigung durch Pyrogallol und gibt die Möglichkeit die Schale bei durchfallendem Lichte zu betrachten. Meine Methode erscheint vollständig gleichwertig der vor kurzem vorgeschlagenen Methode von Fortner, weist aber dabei eine Reihe von Vorzügen auf:

1) schnellere Keimung, 2) Unmöglichkeit der Verunreinigung durch die Aerobier, 3) eine grosse Impffläche, 4) keine Bildung von Kondenswasser durch die Anwesenheit einer starken Pyrogallol- und Sodalösung, 5) Leichtigkeit des Öffnens und Schliessens der Schale, 6) Möglichkeit (dank der Sauerstoffabsorption durch die Pyrogallol- und Alkalilösung) solche Anaerobearten zu züchten, welche sich nach Fortners Methode schlecht entwickeln (in unserem Falle *B. perfringens).*

Ein Zusatz zum gewöhnlichen Agar von $FeCO_3$ fördert bedeutend das Wachstum der Anaeroben. Letzteres wird aber kaum nicht nur

durch seine Reduktionsfähigkeit hervorgerufen, sondern auch durch die bei der Selbstoxydation sich bildende Kohlensäure.

Das Vorhandensein von Kohlensäure fördert dermassen das Wachstum der Anaeroben, dass viele derselben in einer Atmosphäre mit einem Sauerstoffgehalt über 1% zur Entwicklung gelangen.

Da die Anaeroben gut angehen, wenn die Indikatorentfärbung nach 24 Stunden eintritt, so liegt keine Notwendigkeit vor eine möglichst schnelle Bildung eines absoluten Vacuums anzustreben.

Die Erklärungen von Zeissler und Schattenfroh über die Ursachen eines schlechteren Wachstums von Anaeroben in isolierten Gefässen deckt wohl kaum die richtige Sachlage auf, denn eine schlechtere Keimung kann in diesem Falle von einer schnelleren und vollständigeren Absorption der Kohlensäure durch Alkali bedingt sein.

Aus dem Sanitäts-Bakteriologischen Institut. Swerdlowsk.

Seltene Formen der Wut und Komplikationen im Laufe der Impfung.

L. Gutmann.

1. Auf der Swerdlowsker Wutstation sind im Zeitraum von 2 Jahren 2 Fälle atypischer Wut beobachtet worden. Ein Fall verlief unter dem Bilde einer Meningitis, der andere—als ascendierende Paralyse. In beiden Fällen wurde Strassenvirus nachgewiesen. Im Zusammenhang mit dem zweiten Fall wird die Aethiologie der postvaccinalen Paralysen besprochen. Die Schwierigkeit einer Differenzierung zwischen paralytischer Wut und postvaccinaler Lähmung wird hervorgehoben. Auf Grund eigener Beobachtungen und einiger Litteraturangaben glaubt Verf. auch dem Strassenvirus eine aethiologische Bedeutung für die Entstehung postvaccinaler Lähmungen zusprechen zu dürfen.

2. Ein Fall von Anaphylaxie im Beginne der Wutschutzimpfung sowie eine Reihe subjektiver Beschwerden im Laufe derselben, werden ausführlich besprochen.

3. Zum Schluss wird über ein cystenartiges Gebilde unbekannter Herkunft, das im Hirne von Passagetieren gefunden worden ist, berichtet.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

имени ПАСТЕРА

ЛЕНИНГРАДСКОГО ОТДЕЛА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

Улица Мира, 12-а Телефон 607-52

ПРОИЗВОДИТ:

ЛЕЧЕБНЫЕ СЫВОРОТКИ

• • •

ЛЕЧЕБНЫЕ СЫВОРОТКИ, ОЧИЩЕННЫЕ ОТ ПАССИВНЫХ БЕЛКОВ

• • •

ЛЕЧЕБНЫЕ И ПРЕДОХРАНИТЕЛЬНЫЕ ВАКЦИНЫ

• • •

АНТИВИРУСЫ ПО БЕЗРЕДКА

• • •

ТУБЕРКУЛИНЫ

• • •

ОСПЕННЫЙ ДЕТРИТ

• • •

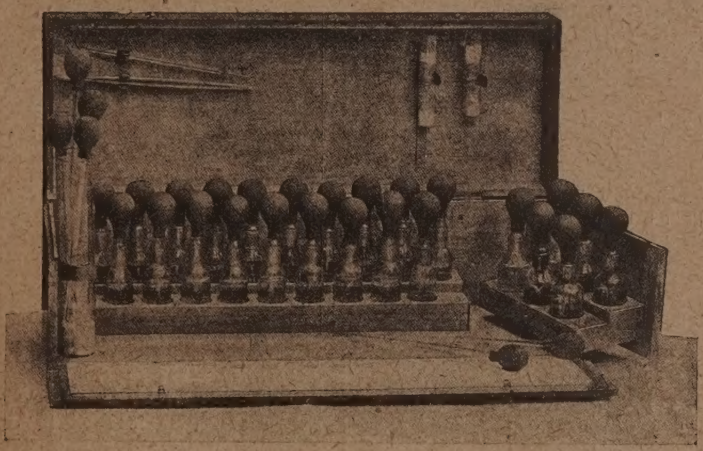
ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

имени ПАСТЕРА

(Ленинград, улица Мира, 12-а).

ВЫПУЩЕН В ПРОДАЖУ:



P_H—IONOMETER

НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ВОДОРОДНЫХ ИОНОВ

(по Clark'y и Lubs'y)

НАБОР СОСТОИТ ИЗ ДЕРЕВЯННОГО ЯЩИКА, СОДЕРЖАЩЕГО:

20 флаконов буферных растворов с P_H от 5,2 до 9,0 в количестве до 25 куб. см в каждом флаконе,
5 флаконов индикаторов,
1 флакон дестиллированной воды,
40 стеклянных чашечек для производства измерений,
1 пинцет,
1 платиновую петлю,
5 пипеток с резиновыми баллонами.

ГОСУДАРСТВЕННОЕ МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО РСФСР

Правление: Москва, М. Черкасский пер., 2/6.

Ленинградское областное отделение: Ул. Пролеткульта, 1, тел. 660-30.
Оптово-розничный магазин: Просп. Володарского, 53-а, тел. 405-74.

Продолжается подписка на 1930 год.

Врачебная газета—24 №№ в год
с бесплатным приложением ряда книг по актуальным вопросам медицины и строительства народного здравоохранения. На год—10 р., на полгода—6 р.

ВОПРОСЫ ИЗУЧЕНИЯ И ВОСПИТАНИЯ ЛИЧНОСТИ
6 книг в год. На год—8 р. Дополн. рассрочка: при подписке—5 р. и 1-го мая—3 р.

ВРАЧЕБНАЯ ПРАКТИКА
12 книг в год. С беспл. прилож.: „Календарь для врачей на 1930 г.“ На год—20 р.

ВОПРОСЫ ТУБЕРКУЛЕЗА
12 книг в год. На год—12 р., на полгода—7 р.

ОХРАНА МАТЕРИНСТВА И МЛАДЕНЧЕСТВА
12 книг в год. На год—3 р., на полгода—1 р. 65 к.

НОВАЯ ХИРУРГИЯ
10 книг в год. На год—12 р., на полгода—7 р.

ВОЕННО-САНИТАРНОЕ ДЕЛО
12 книг в год. На год—9 р., на полгода—5 р.

ВЕСТНИК ФАРМАЦИИ
12 книг в год. На год—5 р., на полгода—3 р.

МОСКОВСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ
12 книг в год. На год—12 р., на полгода—7 р.

ЖУРНАЛ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ
9 книг в год. На год—12 р. на полгода—7 р.

Журнал акушерства и женских болезней
Орган Акушерско-гинекол. об-ва в Ленингр. 8 кн. в год—10 р., на полгода—6 р.

Обозрение психиатрии, неврологии и рефлексологии имени Бехтерева
4 кн. в год. Подписн. плата на год—6 р.

Вопросы здравоохранения
24 кн. в год. 48 №№ „Официального отдела.“ На год—12 р., на полгода—7 р. Для уездн. и участк. больниц и участк. врачей: на год—7 р., на полгода—4 р.

ВЕНЕРОЛОГИЯ И ДЕРМАТОЛОГИЯ
12 кн. в год. На год—12 р., на полгода—4 р.

ГИГИЕНА И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ
12 кн. в год. На год—12 р., на полгода—7 р.

ЖУРНАЛ ПО ИЗУЧЕНИЮ РАННЕГО ДЕТСКОГО ВОЗРАСТА
12 книг в год. На год—10 р., на полгода—6 р.

ОДОНТОЛОГИЯ И СТОМАТОЛОГИЯ
12 книг в год. На год—12 р., на полгода—7 р.

КУРОРТНО-САНАТОРНОЕ ДЕЛО
9 кн. в год. На год—12 р., на полг.—7 р.

Теория и практика физкультуры
12 книг в год. На год—5 р., на полгода—3 р.

Медицинская Книга-Бюллетень
12 книг в год. На год—1 р. 50 к. Для подписчика любого журнала Госмедиздата—1 р.

Русский журнал тропической медицины, медицинской и ветеринарной паразитологии
12 книг в год. На год—12 р., на полгода—7 р.

Любую медицинскую книгу высылает наложенным платежом
Москва = Госмедиздат „Медкнига-Почтой“ = Ленинград

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
имени ПАСТЕРА
ЛЕНИНГРАДСКОГО ОБЛЗДРАВОТДЕЛА

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ПОД РЕДАКЦИЕЙ
А. М. Безредка, О. О. Гартоха, Акад. Д. К. Заболотного, Я. Ю. Либермана,
П. П. Маслакова и Акад. Г. А. Надсона

ТОМ X 1930 ВЫП. 1

ЛЕНИНГРАД

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ИЗДАВАЕМЫЙ

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИМ ИНСТИТУТОМ имени ПАСТЕРА Ленинградского Облздравотдела

ВЫХОДИТ ПЕРИОДИЧЕСКИ РАЗ В ДВА МЕСЯЦА

ПОД РЕДАКЦИЕЙ

А. М. Безредка, О. О. Гартоха, Акад. **Д. К. Заболотного, Я. Ю. Либермана, П. П. Маслаковца** и Акад. **Г. А. Надсона**

ПРОГРАММА ИЗДАНИЯ:

I. Оригинальные статьи по:

а) общей и медицинской микробиологии,
б) эпидемиологии и в) иммунитету.

II. Критические очерки и рефераты.

III. Русская и иностранная библиография.

IV. Научная хроника.

Авторы, желающие поместить в журнале оригинальную статью или критический обзор, благоволят предварительно снестись с Редакцией, сообщив ей характер статьи, а также характер и количество рисунков, если таковые нужны. Статьи, присланные в Редакцию, должны быть напечатаны на машинке, рукописи, написанные от руки, не принимаются.

Размер статьи не должен превышать 20.000 печ. знаков. Рисунки, таблицы и пр. иллюстрации могут составлять не более $^1/_{10}$ всей статьи; большее количество печатается за счет автора.

Статьи снабжаются авторефератом (резюме) на немецком, французском или английском языке. Редакция обращает внимание авторов на то, что резюме статьи не должно ограничиваться лишь перечнем выводов, а представлять собой действительно сжатое изложение всей работы, размером 2.500—3.000 печ. знаков. В случае невозможности для автора перевести резюме на иностранный язык, в Редакцию может быть направлен русский текст для перевода его за счет автора.

Критические очерки, статьи по методике исследований и пр. могут быть сокращаемы по усмотрению Редакции. Авторы, напечатавшие статью в журнале, обязуются не печатать ее в течение года (со дня выхода в свет) ни в каком другом русском издании. Статьи не оплачиваются, но авторы их получают бесплатно 25 отдельных оттисков.

Авторов Редакция просит присылать свои научные труды для реферирования и отзыва в журнале.

ПОДПИСНАЯ ЦЕНА

на 1930 г.: **в СССР 12** руб.; **за границу 15** руб. с пересылкой.

Допускается рассрочка: при подписке 6 р., к 1 мая—3 р. и сент.—3 р.

Требования и деньги надлежит адресовать ИСКЛЮЧИТЕЛЬНО В РЕДАКЦИЮ.

АДРЕС РЕДАКЦИИ: Ленинград, Бактериологический Институт им. Пастера, ул. Мира, 12-а.

Редакция открыта для переговоров: по вторникам и четвергам от 11—1 часу дня.

Ответственный Редактор *Я. Ю. Либерман.*
Секретарь *С. С. Казарновская.*